

Maria Terezinha França

**PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES
SÓLIDAS PELA TÉCNICA DE *SPRAY DRYING* UTILIZANDO O
FÁRMACO MODELO CLORTALIDONA**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Farmácia da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Hellen Karine
Stulzer

Florianópolis
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

França, Maria Terezinha

Planejamento e desenvolvimento de dispersões sólidas
pela técnica de spray drying utilizando o fármaco modelo
clortalidona / Maria Terezinha França ; orientadora,
Hellen Karine Stulzer - Florianópolis, SC, 2016.
165 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós
Graduação Multidisciplinar em Saúde.

Inclui referências

1. Saúde. 2. Clortalidona. 3. Dispersões sólidas. 4.
Spray drying. 5. Solubilidade. I. Stulzer, Hellen Karine .
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação Multidisciplinar em Saúde. III. Título.

Maria Terezinha França

**PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES
SÓLIDAS PELA TÉCNICA DE *SPRAY DRYING* UTILIZANDO O
FÁRMACO MODELO CLORTALIDONA**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Local, 20 de junho de 2016.

Prof. ^a Dr.^a Tânia Creczinski Pasa

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Hellen Karine Stulzer

Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Alexandre Luis Parizzi

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Bianca Ramos Pezzini

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Diva Sonaglio

Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus
amigos, meu namorado e aos meus
queridos pais.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sebastião e Bernadete, e aos meus irmãos, por sempre me apoiarem e acreditarem em mim;

Ao meu namorado Tadeu pela parceria, apoio, carinho, dedicação e compreensão ao longo deste projeto;

À minha orientadora, Prof^{ra}. Dr.^a Hellen Karine Stulzer, pela oportunidade concedida, pela colaboração no meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal, pela amizade e confiança no meu trabalho;

Aos professores do Laboratório de Controle de Qualidade, Marcos Antônio Segatto da Silva e Simone Gonçalves Cardoso, pela contribuição no decorrer deste trabalho, tanto científica quanto pessoal;

Aos colegas Rafael, Caroline e Simone, responsáveis pelo equipamento *spray dryer*, por possibilitarem e auxiliarem na utilização deste equipamento;

Aos colegas e amigos de laboratório Aline B., Aline F., Amarilis, Ana Carolina, Brenda, Cassiana, Cinira, Daiane, Fabiana, Gislaine, Jéssica, Juliana, Manoela, Paola, Rafael, Roberta, Tatiane, Thiago e Viviane pelo coleguismo, descontração, convivência e valiosa troca de conhecimentos;

Ao colega André O'Reilly pelo auxílio em testes realizados no laboratório de Farmacotécnica e na realização do planejamento experimental;

Ao professor Adailton Bortoluzzi, do departamento de Química desta Universidade, pela gentileza na utilização do difratômetro de raios X de pó, o qual foi crucial para meu trabalho;

Ao professor Pedro Barreto e aos seus alunos que nos auxiliaram na realização das análises de ângulo de contato;

A todos os professores, servidores e colegas de outros laboratórios do Departamento de Ciências Farmacêuticas, que contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho;

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia (PGFAR) desta universidade, por possibilitarem a realização deste trabalho, através do suporte financeiro e/ou infraestrutura.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo, fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez.”

(George Bernard Shaw)

RESUMO

A baixa solubilidade de fármacos apresenta-se como um dos aspectos mais desafiadores no desenvolvimento de novas formulações. A clortalidona (CTD), é um diurético capaz de reduzir a pressão arterial e complicações cardiovasculares. A biodisponibilidade oral deste fármaco é limitada pela sua baixa solubilidade aquosa e baixa permeabilidade, justificando-se o uso de estratégias tecnológicas que possam contornar as suas limitações biofarmacêuticas. Neste trabalho, foram desenvolvidas dispersões sólidas (DS) que apresentaram resultados promissores e inéditos relacionados ao aprimoramento das propriedades biofarmacêuticas da clortalidona. O polímero alginato de sódio (ALG) e os surfactantes Soluplus® (SOL) e lauril sulfato de sódio (LSS) foram selecionados para o desenvolvimento de DS através de cálculos teóricos de parâmetro de solubilidade e avaliação do impacto de polímeros e surfactantes na solubilidade aparente da CTD. Um delineamento fatorial *D-optimal* 2⁴ foi aplicado no desenvolvimento das DS, variando fatores como a % de CTD e presença ou ausência de cada um dos três excipientes. Assim, foram obtidas 18 DS e a CTD amorfa pela técnica de *spray drying*. Estas foram avaliadas quanto a dissolução *in vitro* (condição *sink*), ângulo de contato/molhabilidade e caracterização do estado sólido. A amorfização da CTD proporcionou um aumento de 66 % na eficiência de dissolução (90 min) comparada à CTD cristalina. DS contendo polímero e surfactantes propiciaram uma dissolução ainda mais elevada do fármaco. As dispersões contendo ALG-SOL-LSS (F1), apenas ALG (F3), e ALG-LSS (F16), todas contendo 75 % de fármaco, destacaram-se por apresentar dissolução *in vitro* superior a 90 %. A molhabilidade não aparentou ser um fator limitante na dissolução da CTD. Estas DS F1, F3 e F16 e a CTD amorfa foram submetidas a um estudo de estabilidade (90 dias) e ensaios de dissolução em condições de supersaturação. O polímero e os surfactantes exerceram importante papel na estabilidade dessas DS, mantendo a % de dissolução (4 °C/50 % UR e 40°C/0 % UR) e inibindo a recristalização (4 °C/50 % UR). Nos ensaios de dissolução em condições não-*sink*, a CTD amorfa e as DS F1 e F16 proporcionaram altos níveis de supersaturação em água e em meio biorrelevante. As DS F1 e F16 mantiveram elevada supersaturação por 6 horas em meio biorrelevante, fato este que pode ser promissor na melhoria da biodisponibilidade oral da CTD.

Palavras-chave: Clortalidona. Dispersões sólidas. *Spray drying*. Solubilidade. Polímeros. Surfactantes.

ABSTRACT

The low drugs solubility is the major challenge in the development of new formulations. The chlorthalidone (CTD) is a diuretic capable in reducing arterial blood pressure and cardiovascular complications. The oral drug bioavailability is limited by its low aqueous solubility and low permeability, justifying the use of technological strategies that are able to improve these limitations. Solid dispersions (SD) developed in this work presented promising unpublished results related to the enhancement of CTD biopharmaceutical properties. The polymer sodium alginate (ALG) and the surfactants Soluplus® (SOL) and sodium lauryl sulfate (LSS), used in the development of SD, were chosen for considering calculated solubility parameters and through evaluation of the impact of polymers and surfactants in CTD apparent solubility. The SD were prepared by spray drying technique using a D-optimal 2⁴ factorial design of experiment. In total 18 SD were developed varying the CTD percentage in the dispersion and the presence or absence of each one of the three excipients. It was evaluated the *in vitro* dissolution (sink condition), the contact angle/wettability and the solid-state characterization for the SD, the amorphous CTD (obtained by spray drying) and the crystalline CTD. The CTD amorphization increased the dissolution efficiency (90 min) in 66 % compared to the crystalline CTD. In the same way, the SD containing the polymer and surfactants allowed higher drug dissolution. Three dispersions stood out for presenting *in vitro* dissolution above 90 %: the ones containing ALG-SOL-LSS (F1), ALG (F3) and ALG-LSS (F16), all of them containing 75 % of the drug. The wettability did not show up as a limiting factor in CTD dissolution. Stability studies for (90 days) and dissolution tests in supersaturating conditions were run with SD F1, F3, F16 and amorphous CTD. The polymer and the surfactants had an important part in the SD stability, preserving the dissolution percentage (4 °C/50 % RH and 4 °C/0 % RH) and inhibiting the recrystallization (4 °C/50 % RH). On dissolution tests in non-sink conditions, the SD F1 and F16, as well as the amorphous CTD, allowed high levels of supersaturation in water and in the presence of biorelevant medium. F1 and F16 were able to maintain these levels for 6 hours in biorelevant medium, a fact that may be promising in the improvement of CTD oral bioavailability.

Key-words: Chlorthalidone. Solid dispersions. Spray drying. Solubility. Polymers. Surfactants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	36
Figura 2 - Diagrama esquemático ilustrando as estratégias frequentemente utilizadas no intuito de contornar a baixa solubilidade de fármacos.....	37
Figura 3 - Estrutura molecular da Clortalidona.....	39
Figura 4 - Entalpia e volume dos diferentes estados do fármaco em uma função da temperatura; T_g e T_f são de temperatura de transição vítrea e temperatura de fusão, respectivamente; o diagrama não está em escala.....	42
Figura 5 - Representação esquemática do processo de secagem pela técnica de <i>spray drying</i>	46
Figura 6 - Representação das abordagens de “Spring” e “parachute” de sistemas capazes de causar supersaturação durante a dissolução, concentração aquosa do fármaco versus tempo. Perfil 1: dissolução do fármaco cristalino, perfil 2: dissolução de um sólido amorfo na ausência de inibidor de precipitação (spring), e o perfil 3: dissolução de DS amorfa na presença de inibidor de precipitação (parachute). C_{eq} representa a solubilidade de equilíbrio do fármaco na fase aquosa.....	49
Figura 7 - Solubilidade aparente da CTD ($\mu\text{g/mL}$) na presença de polímeros em diferentes concentrações (%; p/v), $t = 24\text{h}$ em pH 6,8.	68
Figura 8 - Solubilidade aparente da CTD ($\mu\text{g/mL}$) na presença de surfactantes em diferentes concentrações (%; p/v), $t = 24\text{h}$, pH 6,8.	69
Figura 9 - Solubilidade aparente da CTD ($\mu\text{g/mL}$) na presença de combinações dos surfactantes SOL e LSS e do polímero ALG (concentrações em %; p/v), $t = 24\text{h}$, pH 6,8.	70
Figura 10 - Dissolução de um fármaco a partir de uma forma farmacêutica.	77
Figura 11 - Dados referentes a dissolução das DS, CTD (clortalidona cristalina) e CTD SD (clortalidona amorfa): A) perfis de dissolução B) Eficiência de dissolução. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.....	81
Figura 12 - Efeito das interações entre os fatores analisados na D_{90} referente às DS. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.	85
Figura 13 - Ângulo de contato referente a CTD matéria-prima (A) e a CTD amorfa obtida por <i>spray drying</i> (B).	86
Figura 14 - Efeito das interações entre ângulo de contato referente as DS. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.....	89
Figura 15 - Relação entre eficiência de dissolução <i>versus</i> ângulo de contato das DS.	90
Figura 16 - Difração de raios X de pó da CTD, CTD SD, LSS SD e DSS.	92

Figura 17 - Análises de DSC da CTD, CTD SD, LSS SD, F6, F4, F5, F9, F12, F14, F16 e F13/F18, razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹	94
Figura 18 - Espectroscopia no infravermelho dos materiais de partida utilizados na produção das DS e CTD SD.	96
Figura 19 - Espectroscopia no infravermelho dos materiais de partida utilizados na produção das DS e CTD SD.	97
Figura 20 - Fotomicrografias da CTD matéria-prima (A) e CTD SD (B).	99
Figura 21 - Fotomicrografias das DSS.	99
Figura 22 - Difração de raios X de pó da CTD SD, F1, F3/F8, F7/F17, F10, F2/F15 e F11.	100
Figura 23 - Análises de DSC das DSA F1, F3/F8, F7/F17, F10, F2/F15 e F11, razão de aquecimento de 2 °C min ⁻¹	101
Figura 24 - Espectroscopia no infravermelho das DSA.	102
Figura 25 - Fotomicrografias das DSA.	104
Figura 26 - Perfis de dissolução da CTD SD submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.	112
Figura 27 - Perfis de dissolução da DSA F1 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias. ...	113
Figura 28 - Perfis de dissolução da DSA F3 submetida as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias. ...	115
Figura 29 - Perfis de dissolução da DSS F16 submetida as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.	116
Figura 30 - Difração de raios X de pó da CTD SD (1) e F1 (2) submetidas as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.	119
Figura 31 - Difração de raios X de pó da DSA F3 (1) e F16 (2) submetidas as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.	120
Figura 32 - Espectroscopia no infravermelho da CTD SD submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.	123

Figura 33 - Espectroscopia no infravermelho da DSA F1 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.....	124
Figura 34 - Espectroscopia no infravermelho da DSA F3 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.	125
Figura 35 - Espectroscopia no infravermelho da DSA F16 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.	126
Figura 36 - Fotomicrografias da CTD SD, F1, F3 e F16 após 90 dias submetidas as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR.	128
Figura 37 - Estudos de dissolução em condição de supersaturação da a F1, F3, F16, CTD SD (amorfa) e CTD cristalina usando como meio água ultrapura, a $37 \pm 0,2$ °C, sob agitação de aproximadamente 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.	135
Figura 38 - DRXP do sólido recuperado após os estudos de supersaturação das amostras F1, F3, F16, CTD SD (amorfa) e CTD cristalina usando como meio água ultrapura, a $37 \pm 0,2$ °C, sob agitação de 150 rpm.....	138
Figura 39 - Estudos de dissolução em condição de supersaturação das amostras F1, F3, F16, CTD SD (amorfa) e CTD cristalina usando como meio biorrelevante FaSSiF, a $37 \pm 0,2$ °C, sob agitação de 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.....	140

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cálculo do parâmetro de solubilidade da Clortalidona. ΔE = molar energia coesa, ΔV = volume molar. Todas as contribuições de grupo para a energia de vaporização e volume molar foram obtidos a partir da tabela apresentada por Fedors (1974), os valores aplicam-se a 25 ° C.....	66
Tabela 2 - Cálculo do parâmetro de solubilidade (δ) para os polímeros e a diferença entre os parâmetros de solubilidade destes com a CTD ($\Delta\delta$). Todas as contribuições de grupo para a energia de vaporização e volume molar foram obtidos a partir da tabela apresentada por Fedors (1974), os valores aplicam-se a 25 ° C.....	67
Tabela 3 - Composição das DS produzidas. CTD- Clortalidona, CTD A- Clortalidona amorfa, ALG- Alginato de sódio, SOL- Soluplus®, LSS- Lauril sulfato de sódio.....	75
Tabela 4 - Planejamento fatorial <i>D-optimal</i> 2 ⁴ . Fatores analisados quanto a composição das DS (DS) : proporção de CTD (níveis: 25 e 75 %), presença dos excipientes ALG, SOL e LSS (níveis: 0 - presença ou 1 - ausência nas DS) e as respostas avaliadas % de dissolução em 90 min (D90min) e ângulo de contato (AC).....	80
Tabela 5 - Cálculo do fator de similaridade (f_2) entre CTD (Clortalidona cristalina), CTD SD (Clortalidona amorfa) e as DS (F1 a F18) bem como as replicatas F2 e F15, F3 e F8, F7 e F17 e, F13 e F18.....	83
Tabela 6 - Ângulo de contato referente a CTD matéria-prima, CTD amorfa (CTD SD) e DS (DS). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.....	87
Tabela 7 - Reflexões de difração de raios X de pó (posição 2θ) a partir dos difratogramas das DSS.....	93
Tabela 8 - Dados referentes aos espectros FTIR experimentais e calculados referentes as DSA.....	103
Tabela 9 - Nível de desejabilidade das DS buscando maximizar a quantidade de CTD nestas e maximizar a taxa de dissolução em 90 min. Atribui-se peso = 1 e importância = 3 para todos os fatores e respostas analisados.....	105
Tabela 10 - Composição do meio biorrelevante simulando o meio intestinal em jejum (FaSSIF).....	134
Tabela 11 - Concentração máxima (C_{max}), tempo para atingir essa concentração máxima (T_{max}) e cálculo da área sobre a curva (AUC) dos estudos de supersaturação utilizando meio água ultrapura, a $37 \pm 0,2$ °C, sob agitação de aproximadamente 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.....	136
Tabela 12 - Concentração máxima (C_{max}), tempo para atingir essa concentração máxima (T_{max}) e cálculo da área sobre a curva (AUC) dos estudos de	

supersaturação utilizando meio biorrelevante FaSSIF, a $37 \pm 0,2$ °C, sob
agitação de 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio
padrão. 140

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Características dos carreadores poliméricos. D: doador, A: aceptor. 64

Quadro 2- Características dos surfactantes. D: doador, A: aceptor, CMC:
concentração micelar crítica.65

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ALG - Alginato de Sódio
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUC - Área sob a curva
 C_{eq} - Concentração de equilíbrio
 C_{max} - Concentração máxima de supersaturação
CMC - Concentração micelar crítica
CTD - Clortalidona
DEC - Densidade de energia coesiva
DS - Dispersão sólida
DSA - Dispersão sólida amorfa
DSLIP - Dispersão sólida de liberação prolongada
DSS - Dispersão sólida semicristalina
FaSSGF - Meio biorrelevante simulando o meio gástrico em jejum
FaSSIF - Meio biorrelevante simulando o intestino em jejum
FeSSIF - Meio biorrelevante simulando o intestino no estado alimentado
FDA - *U.S. Food and Drug Administration*
HPMC - Hidroxipropilmetilcelulose
IFA - Ingrediente farmacêutico ativo
LSS - Lauril sulfato de sódio
PEG - Polietilenoglicol
PEO - Polietileno-óxido
SCB - Sistema de classificação biofarmacêutica
SDDS - Sistemas supersaturados de liberação de fármacos
 t_0 - Tempo zero
 T_{max} - Tempo para atingir a concentração máxima
 δ - Parâmetro de solubilidade
 $\Delta\delta$ - Variação entre o parametro de solubilidade de dois compostos
 Δ_{EV} - Energia de vaporização
 V_m - Volume molar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
1.1 OBJETIVOS.....	30
1.1.1 Objetivo Geral	30
1.1.2 Objetivos Específicos.....	30
2 REVISÃO DA LITERATURA	34
2.1 SOLUBILIDADE E SUAS IMPLICAÇÕES FARMACÊUTICAS	34
2.1.1 Clortalidona: um fármaco modelo SCB classe IV	38
2.2 SISTEMAS AMORFOS.....	40
2.3 DISPERSÕES SÓLIDAS	43
2.3.1 Classificação das dispersões sólidas	44
2.4 A TÉCNICA DE <i>SPRAY DRYING</i> NA OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS	45
2.5 DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMAS SUPERSATURADOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS (SDDS) ..	48
2.5.1 Avaliação <i>in vitro</i> de SDDS	51
2.6 PARÂMETRO DE SOLUBILIDADE DE HILDEBRAND	52
2.7 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	54
2.7.1 Planejamento fatorial.....	56
2.7.2 Otimização do modelo experimental	57
3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE CARREADORES POLIMÉRICOS E SURFACTANTES SOBRE A SOLUBILIDADE APARENTE DA CLORTALIDONA	60
3.1 INTRODUÇÃO.....	60
3.2 METODOLOGIA	61
3.2.1 Materiais	61
3.2.2 Seleção de carreadores poliméricos e surfactantes.....	62
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
3.3.1 Seleção de carreadores poliméricos e surfactantes.....	63
3.4 CONCLUSÃO.....	70
4 DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DE CLORTALIDONA	72
4.1 INTRODUÇÃO.....	72
4.2 METODOLOGIA	73
4.2.1 Materiais	73
4.2.2 Delineamento experimental	73

4.2.3 Obtenção das DS	74
4.2.4 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i>	75
4.2.5 Avaliação do ângulo de contato e molhabilidade	77
4.2.6 Caracterização por técnicas do estado sólido	78
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
4.3.1 Delineamento experimental.....	79
4.3.2 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i>	80
4.3.3 Avaliação do ângulo de contato e molhabilidade	86
4.3.4 Caracterização por técnicas do estado sólido	91
4.4 CONCLUSÃO	105
5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DESENVOLVIDAS.....	108
5.1 INTRODUÇÃO	108
5.2 METODOLOGIA	109
5.2.1 Materiais	109
5.2.2 Obtenção das DS	109
5.2.3 Estudo de estabilidade	109
5.2.4 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i>	110
5.2.5 Caracterização por técnicas do estado sólido	110
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	111
5.3.1 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i>	111
5.3.2 Caracterização por técnicas do estado sólido	117
5.4 CONCLUSÃO	128
6 ESTUDOS DE DISSOLUÇÃO ENVOLVENDO CONDIÇÕES DE SUPERSATURAÇÃO.....	132
6.1 INTRODUÇÃO	132
6.2 METODOLOGIA	133
6.2.1 Materiais	133
6.2.2 Estudos de dissolução em condição de supersaturação	134
6.3 RESULTADOS.....	135
6.3.1 Estudos de dissolução em condição de supersaturação utilizando água	135
6.3.2 Estudos de dissolução em condição de supersaturação utilizando meio biorrelevante FaSSIF.....	139
6.4 CONCLUSÃO	142
CONSIDERAÇÕES FINAIS	145
REFERÊNCIAS.....	147

APÊNDICE A 165

1 INTRODUÇÃO

A baixa solubilidade de fármacos é atualmente um dos aspectos mais desafiadores no desenvolvimento de novas formulações, visto que, nos últimos anos, está se tornando cada vez mais prevalente entre os candidatos a novos fármacos (FAHR; LIU, 2007, KU; DULIN, 2012). Essa baixa solubilidade aquosa geralmente provoca má absorção e dissolução do fármaco, acelera a sua eliminação no trato gastrointestinal, e requer altas doses diárias para assegurar a eficácia do tratamento, podendo aumentar o risco de toxicidade ao paciente (KERN; DI, 2008).

A clortalidona é um diurético com ação semelhante à classe dos tiazídicos (GILMANN, 2005) recomendado no tratamento inicial de hipertensão arterial e suas complicações (JAMES et al., 2014; MANCIA et al., 2013). Segundo o sistema de classificação biofarmacêutico (SCB), a clortalidona possui baixa solubilidade e permeabilidade (WU; BENET, 2005). Embora possua limitações biofarmacêuticas, alguns estudos demonstram que esta possui maior potência quando comparada a outros diuréticos, como a hidroclorotiazida (ROUSH; BUDDHARAJU; ERNST, 2013).

Recentemente, diversas abordagens têm sido desenvolvidas no intuito de contornar as limitações biofarmacêuticas dos fármacos, como baixa solubilidade aquosa e baixa permeabilidade. Neste sentido, o desenvolvimento de sistemas amorfos e DS, particularmente as amorfas, tem sido considerado uma abordagem de destaque na área farmacêutica. Os amorfos são sistemas que possuem alta energia, possibilitando que uma menor energia seja necessária para a sua dissolução. Dessa forma, esses proporcionam um aumento na solubilidade aparente e taxa de dissolução do fármaco, muitas vezes, produzindo níveis de supersaturação. Nas DS, o fármaco é disperso em um carreador inerte. Essa abordagem apresenta vantagens relativas à melhoria da biodisponibilidade do fármaco, sem aumentar a incidência de efeitos adversos aos pacientes ou até mesmo interferir no custo do tratamento. Os carreadores hidrofílicos, geralmente utilizados em DS, são relatados pela literatura como de baixo custo e baixa toxicidade (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; VASCONCELOS et al., 2016).

Atualmente, uma ampla gama de técnicas para a obtenção de produtos amorfos estão disponíveis no mercado. Entre as diferentes técnicas, a secagem por *spray dryer* é uma tecnologia eficiente e de fácil escalonamento. Essa técnica é capaz de produzir DS amorfas (DSA) de tamanho de partícula reduzido com uma estreita variação de tamanho

(SINGH; VAN DER MOOTER, 2016). Neste sentido, o desenvolvimento de DS de clortalidona através da técnica de *spray drying* mostra-se como uma alternativa interessante para contornar a limitação da baixa solubilidade aquosa deste fármaco.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver dispersões sólidas através da técnica de *spray drying* visando a melhoria da dissolução *in vitro* do fármaco modelo clortalidona.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o fármaco por técnicas de caracterização do estado sólido: difração de raios X de pó (DRXP), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Desenvolver e validar metodologias analíticas por espectrofotometria ultravioleta (UV) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) visando a quantificação da CTD nos testes de seleção de excipientes e avaliação das DS;
- Selecionar carreadores poliméricos e surfactantes para a obtenção das DS através de cálculos dos parâmetros de solubilidade do fármaco e dos polímeros e da avaliação do impacto destes na solubilidade aparente do fármaco;
- Delinear as DS por meio de um planejamento fatorial;
- Obter as DS de clortalidona, pela técnica *spray drying*, associando o fármaco aos polímeros e/ou surfactantes previamente selecionados;
- Caracterizar as DS desenvolvidas através das técnicas do estado sólido mencionadas anteriormente;
- Avaliar a influência de fatores de formulação nas características finais das DS produzidas;
- Avaliar a taxa de dissolução *in vitro* em condições *sink* e ângulo de contato/molhabilidade;
- Avaliar a estabilidade das DS em estudos de estabilidade acelerada através das técnicas já mencionadas;

- Avaliar a dissolução *in vitro* das DS desenvolvidas em condições de supersaturação.

Capítulo I

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SOLUBILIDADE E SUAS IMPLICAÇÕES FARMACÊUTICAS

A solubilidade é um parâmetro termodinâmico definido como a quantidade máxima de soluto que se dissolve em um determinado solvente ou solução, à temperatura e pressão constantes (BUENO; RECH, 2009; SHARGEL; WU-PONG; YU, 2005). A solubilidade de um composto depende de diversos fatores, tais como a natureza do soluto e do solvente, tipos de interações químicas entre estes, forma da molécula, área superficial, pH, entre outros. As forças de interação cumprem um papel decisivo na solubilização de solutos em solventes, como dipolos e interações de hidrogênio. Líquidos polares como a água são adequados para dissolver substâncias polares, enquanto que líquidos apolares são adequados para dissolver substâncias apolares (NETZ; ORTEGA, 2008).

O processo de dissolução de um fármaco geralmente ocorre em três etapas: a) uma molécula de soluto é "removida" de seu cristal; b) uma cavidade para esta molécula é criada no solvente e c) a molécula de soluto é inserida nessa cavidade (ATWOOD; FLORENCE, 2008). As duas primeiras etapas envolvem uma energia de ativação para transpor a barreira das interações moleculares fármaco-fármaco e separá-las, como também para transpor as atrações moleculares solvente-solvente na criação da cavidade. Se a energia cinética transferida for suficiente a molécula vai deixar o ambiente não dissolvido e passar para o solvente, onde esta será rodeada por mais moléculas de solvente e entrará em solução. Uma vez em solução, as moléculas podem dispersar-se no solvente, atingindo uma região dispersiva, estabilizando-se através das interações fármaco-solvente. Dessa forma, qualquer modificação na forma não dissolvida, que reduza as forças atrativas fármaco-fármaco, reduz a energia necessária para que moléculas "não dissolvidas" passem para a forma dissolvida (BELLATONE, 2014).

Uma relação entre solubilidade e taxa de dissolução de fármacos é descrita pela equação (1) de Noyes-Whitney:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{AD(Cs - Ct)}{h} \quad (1)$$

onde: dM/dt é a taxa de dissolução, A é a área específica da partícula do fármaco, D é o coeficiente de difusão, h é a espessura da

camada de difusão, C_s é a solubilidade de saturação e C_t é a concentração de fármaco pelo tempo t (ATWOOD; FLORENCE, 2008; JANSSENS; VAN DER MOOTER, 2009).

A equação 1 prevê uma diminuição da taxa de dissolução em função de um decréscimo de D , quando há um aumento da viscosidade do meio (ATWOOD; FLORENCE, 2008). O coeficiente de difusão depende do peso molecular do fármaco e da viscosidade dos fluídos gastrointestinais. Esta viscosidade varia no estado jejum e alimentado, estando sujeita a grande variabilidade intra e interindividual. O mesmo é verdade para a espessura da camada de difusão, que é largamente dependente da hidrodinâmica durante o trânsito gastrointestinal. Portanto, esses parâmetros são alvos menos adequados para a otimização da biodisponibilidade de fármacos (JANSSENS; VAN DER MOOTER, 2009).

Melhorias na taxa de dissolução também são observadas através de alterações de C_s , em modificações de pH, ou quando C_t é diminuída, pela ingestão de fluído e/ou absorção do fármaco (ATWOOD; FLORENCE, 2008). A manipulação da solubilidade de saturação e área de superfície específica dão origem a uma grande variedade de estratégias de formulação para o aumento da taxa de dissolução de fármacos. A área da superfície de contato com o meio de dissolução pode ser aumentada através da redução do tamanho de partícula e/ou melhoria da molhabilidade.

A solubilidade de saturação pode ser aumentada, não só através de modificação química do composto ativo (por exemplo, preparação de pró-fármacos ou sais), mas também através de mudanças no estado físico do fármaco na formulação. Polimorfos metaestáveis e o estado amorfo possuem uma energia livre maior que o estado cristalino, e consequentemente, estas formas têm uma maior solubilidade aparente e podem ser utilizadas em formulações de compostos fracamente solúveis em água. Aditivos de formulação também podem ser utilizados para solubilizar compostos fracamente hidrossolúveis após a dissolução ou para estabilizar soluções de fármacos supersaturados (JANSSENS; VAN DER MOOTER, 2009).

A alta hidrofobicidade e, intrinsecamente, baixa solubilidade em água são características cada vez mais comuns entre os candidatos a novos fármacos. Essa baixa solubilidade aquosa representa desafios ao longo do desenvolvimento de novos medicamentos devido à preocupação com o risco de absorção reduzida e variável após administração oral (WILLIAMS et al., 2013).

A solubilização de fármacos é requisito para a absorção através de membranas biológicas. Mesmo em casos nos quais o fármaco já se apresenta na forma de solução oral, ainda há a possibilidade de precipitação no conteúdo do estômago ou no sangue. Nesse caso, haverá a necessidade de redissolução do mesmo antes que seja absorvido. Uma biodisponibilidade oral elevada é importante para assegurar níveis terapêuticos suficientes após a ingestão de uma dosagem oral aceitável, evitando assim possíveis efeitos adversos causados pela administração de doses mais elevadas e variabilidade da concentração plasmática (WILLIAMS et al., 2013).

Com base no reconhecimento de que a dissolução de fármacos e a permeabilidade gastrointestinal são parâmetros fundamentais no controle da taxa e extensão da absorção, foi desenvolvido em 1995 um SCB. Este sistema classifica os fármacos em 4 classes distintas (Figura 1) a fim de correlacionar a dissolução *in vitro* com a biodisponibilidade *in vivo* (AMIDON et al., 1995). O SCB tem sido muito útil, sendo amplamente aceito na regulamentação de produtos farmacêuticos, é também utilizado como um ponto de partida para fármacos em desenvolvimento (TSUME et al., 2014).

Figura 1 - Representação esquemática do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.

← Solubilidade →	
↑ Permeabilidade ↑	Classe I Alta solubilidade Alta permeabilidade
	Classe II Baixa solubilidade Alta permeabilidade
	Classe III Alta solubilidade Baixa permeabilidade
	Classe IV Baixa solubilidade Baixa permeabilidade

Fonte: Adaptado WILLIAMS e colaboradores (2013).

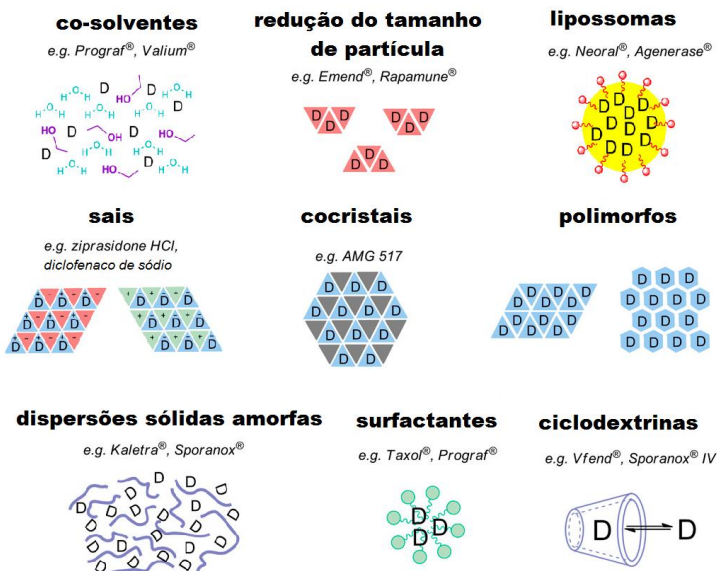
Atualmente cerca de 40 % dos fármacos comercializados e a grande parte dos fármacos em desenvolvimento apresentam baixa solubilidade em água, SCB II ou IV. Recentemente, diversas abordagens têm sido desenvolvidas no intuito de contornar essas limitações biofarmacêuticas. Essas abordagens possuem potencial para contornar

os problemas gerados pela baixa solubilidade aquosa, primeiramente *in vitro* e posteriormente *in vivo*. Dentre essas destacam-se:

- reduções do tamanho de partícula, como micronizações ou nano suspensões;
- complexação/solubilização em co-solventes, surfactantes ou ciclodextrinas;
- modificações químicas como pró-fármacos e sais;
- modificações de estrutura cristalina como polimorfos, amorfos ou pseudopolimorfos;
- cocristais e;
- dispersões de fármacos em carreadores como misturas eutéticas e DS.

Na Figura 2 estão representadas algumas das estratégias mais frequentemente utilizadas e nomes de formas farmacêuticas comerciais utilizando essas tecnologias (WILLIAMS et al., 2013).

Figura 2 - Diagrama esquemático ilustrando as estratégias frequentemente utilizadas no intuito de contornar a baixa solubilidade de fármacos.



Fonte: Adaptado de WILLIAMS e colaboradores, 2013.

2.1.1 Clortalidona: um fármaco modelo SCB classe IV

A clortalidona (CTD), fármaco modelo utilizado neste trabalho, é um diurético classificado de acordo com o SCB como classe IV, apresenta baixa solubilidade e baixa permeabilidade (WU; BENET, 2005). Os fármacos dessa classe apresentam problemas significativos para uma administração oral eficaz (AMIDON et al., 1995).

A CTD atua sobre o túbulo renal distal, é capaz de reduzir a hipertensão arterial e prevenir complicações cardiovasculares, sendo recomendada como tratamento inicial para a hipertensão (JAMES et al., 2014; MANCIA et al., 2013)

Um dos maiores ensaios randomizados já realizados (mais de 33 mil pessoas) relata que a CTD apresentou superioridade na prevenção de doenças cardiovasculares perante outros fármacos, como o lisinopril e anlodipino. Este estudo conclui que diuréticos, como a CTD, são insuperáveis na redução da pressão arterial, redução de eventos clínicos e tolerabilidade, além de serem muito menos onerosos (ALLHAT, 2002).

2.1.1.1 Aspectos farmacocinéticos

Quanto aos aspectos farmacocinéticos, a CTD, quando administrada por via oral, é absorvida incompletamente e não parece ser metabolizada de forma significativa. A CTD possui uma biodisponibilidade oral em torno de 65 % (MOFFAT; OSSELTON; WIDDOP, 2004).

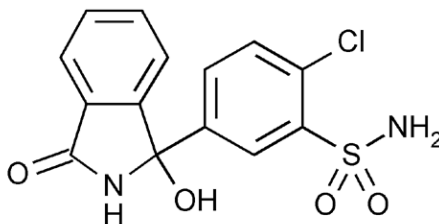
Depois de uma dose única, cerca de 25 a 40 % da CTD é excretada na urina na forma de fármaco inalterado e cerca de 1 % é eliminada pela bÍlis. A quantidade excretada na urina parece ser dependente da dose. A CTD se liga intensamente à proteínas plasmáticas (aproximadamente 75 %), e sua meia vida plasmática é de 35 a 70 horas (média de 48 horas), com aumento em indivíduos idosos (GILMANN, 2005; MOFFAT; OSSELTON; WIDDOP, 2004).

2.1.1.2 Características físico-químicas

Quanto às características físico-químicas, a CTD apresenta-se como um pó branco ou branco-amarelado. A estrutura molecular da CTD está presente na Figura 3, sua fórmula química é $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$, peso molecular de 338,7 g/mol e log de P 0,85. Quanto a capacidade de formar ligações de hidrogênio, a CTD apresenta 3 grupamentos

doadores de elétrons e 5 grupamentos aceptores de elétrons. A CTD possui ponto de fusão em torno de 220 °C, seguido de decomposição (PUBCHEM, 2016; SINGER et al. 1985; USP 30, 2007).

Figura 3 - Estrutura molecular da Clortalidona.



Fonte: USP 30, 2007

Quanto à solubilidade, classifica-se como praticamente insolúvel em água (0,12 mg/mL a 20 °C), solúvel em acetona e em metanol, solúvel em etanol morno e praticamente insolúvel em cloreto de metileno (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010; USP 30, 2007).

A CTD é considerada um ácido fraco, pKa 9,4. A sua solubilidade é pH dependente, sendo solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010; USP 30, 2007). No entanto, de acordo com Atwood (2008), ácidos fracos são completamente não ionizados em pH até 2 unidades abaixo ou acima do seu pKa. Dessa forma, a CTD parece não ionizar na faixa de pH gastrointestinal, que varia de 1 a 2,5 no estômago e de 4 a 8 (geralmente em torno de 6,5) no intestino delgado (MUDIE; AMIDON; AMIDON, 2010).

2.1.1.3 Polimorfismo

A literatura relata a presença de polimorfismo para a CTD, quatro formas polimórficas são conhecidas. As formas I, III e IV são cristais racêmicos que contêm uma mistura equimolar de um par de enantiômeros (R/S: 50/50) numa disposição bem definida. A forma II é uma mistura física de duas estruturas cristalinas, uma metade consiste exclusivamente do enantiômero R e outra metade do enantiômero S (BONFILIO et al., 2014; KOUNTTOURELLS et al., 1992; KUMAR et al., 2006; MARTINS et al., 2009). A forma I é a forma clinicamente

preferida no desenvolvimento de um medicamento (BONFILIO et al., 2014).

2.1.1.4 Estudos descritos na literatura visando a melhoria da dissolução/biodisponibilidade do fármaco modelo CTD

Poucos estudos são relatados na literatura envolvendo abordagens para melhoria da solubilidade e dissolução desse fármaco, dentre os quais citam-se DS de CTD associada ao carreador ureia (BLOCH; ELEGAKY; SPEISER, 1982) e associada aos carreadores mentol, ureia, manitol, crospovidona e polivinilpirrolidona (RAO; KUMAR, 2010; RAO; RAVI; UPENDRA, 2010). Uma patente envolvendo estudos com DS de CTD associada ao carreador polivinilpirrolidona foi reivindicada pela empresa Boehringer Ingelheim em 1990 (PANDIT; HORHOTA, 1990). Essas DS de CTD deram origem a forma farmacêutica comercializada nos Estados Unidos da América com o nome de Thalitone®.

Um estudo recente investigou as propriedades do polímero hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (HPMC-AS) como inibidor de precipitação em soluções supersaturadas de CTD (UEDA et al., 2015). Dessa forma, justifica-se a busca por estratégias tecnológicas que possam contornar as limitações biofarmacêuticas da CTD, tal como a baixa solubilidade aquosa, visando um aumento da biodisponibilidade oral.

2.2 SISTEMAS AMORFOS

O estado sólido amorfo tem desempenhado papel cada vez mais importante na formulação e desenvolvimento de novos medicamentos. Sistemas amorfos destacam-se como meio de formulação para fármacos pouco solúveis em água, devido à sua capacidade de gerar concentrações de supersaturação no meio de dissolução (NEWMAN; NAGAPUDI; WENSLOW, 2015). Sua importância é ilustrada pelo crescente número de publicações sendo que, enquanto a busca pelas palavras “*amorphous*” e “*drugs*” na base de dados Scopus resultava em 80 publicações no ano de 1995, esse número passou para quase 800 publicações no ano de 2015 (DESCAMPS, 2016).

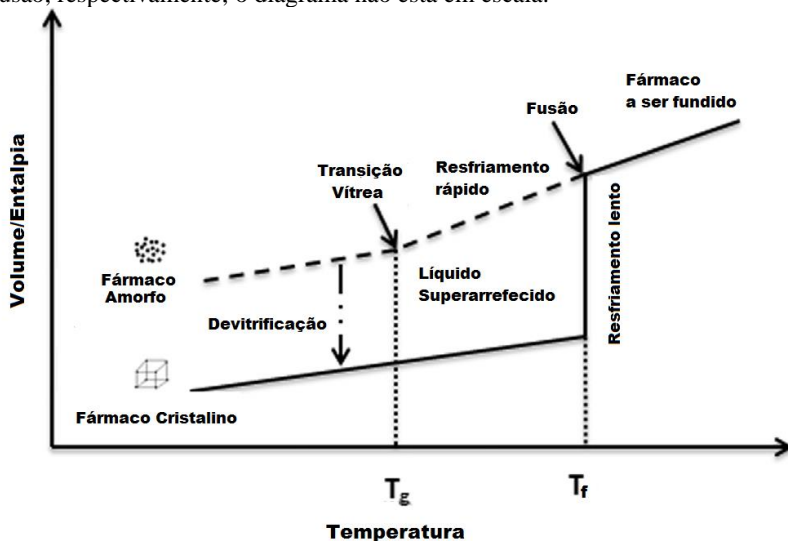
A forma amorfa normalmente é definida pela ausência de ordem específica de longo alcance. Um material cristalino é descrito como tendo simetria tridimensional de longo alcance sobre o domínio, com pelo menos 1000 moléculas individuais. Uma mesofase (cristais líquidos

ou cristais plásticos) é descrita como tendo simetria intermediária sobre os domínios, enquanto que um estado amorfo não tem simetria. Essas diversas modalidades de empacotamento molecular explicam as diferentes propriedades físico-químicas dos sólidos, tais como diferenças de densidade, dureza, propriedades térmicas, condutividade, solubilidade, entre outros. Na prática, cristais perfeitos, sem quaisquer defeitos, não são facilmente encontrados, assim como não são encontrados sistemas amorfos perfeitos. Estudos recentes sugerem que sólidos amorfos de pequenas moléculas podem conter certos elementos estruturais, podendo apresentar ordem de curto alcance sobre os domínios, que são demasiados pequenos para mostrar propriedades cristalinas (BELLATONE, 2014; GAVEZZOTTI, 2007).

A uma temperatura constante, o aumento da distância média entre as moléculas do sistema amorfo pode reduzir a magnitude das forças de atração fármaco-fármaco. Esse aumento de distância também pode reduzir o número de moléculas mais próximas, fazendo com que a alta energia total desse sistema reduza a energia de ativação necessária (a partir do solvente) para a dissolução do fármaco. Essa maior energia livre da forma amorfa faz com que a sua solubilidade aparente seja geralmente alta, muitas vezes superior aos seus homólogos cristalinos (BELLATONE, 2014; NEWMAN; NAGAPUDI; WENSLOW, 2015).

Uma melhor compreensão das diferenças entre as propriedades termodinâmicas de formas cristalinas e amorfas pode ser obtida observando o diagrama da Figura 4. Um fármaco cristalino sofre fusão após ser aquecido à uma determinada temperatura T_f . Durante um resfriamento lento desse fundido, um sistema ordenado pode ser formado se as moléculas tiverem tempo suficiente para passar da sua posição atual para um ponto termodinamicamente estável na estrutura de um cristal, isto é, as moléculas se arranjam em uma ordem definida, regenerando a estrutura cristalina. No entanto, se o fármaco fundido é resfriado subitamente, ele pode atingir um estado líquido superarrefecido (ou estado de borracha), sem sofrer cristalização. Este está a uma temperatura mais baixa que a T_f , e encontra-se em equilíbrio com o fundido. Este equilíbrio permanece até que seja submetido a um resfriamento adicional atingindo a temperatura de transição vítrea (T_g). Abaixo desta temperatura se insere um estado de não equilíbrio, onde o sistema é convertido do estado líquido superarrefecido para o estado vítreo (BAGHEL; CATHCART; O'REILLY, 2016).

Figura 4 - Entalpia e volume dos diferentes estados do fármaco em uma função da temperatura; T_g e T_f são de temperatura de transição vítrea e temperatura de fusão, respectivamente; o diagrama não está em escala.



Fonte: Adaptado de Baghel, Cathcart e O'reilly (2016).

O amorfo é considerado equivalente a uma forma vítrea, seu padrão molecular é frequentemente representado como o de um líquido congelado com alta viscosidade, sendo que a viscosidade aumenta à medida que a temperatura diminui. Abaixo da T_g , o volume, a capacidade calorífica e a viscosidade mudam abruptamente. Geralmente a viscosidade aumenta 6 ordens de magnitude ou mais em uma faixa de temperatura de 5-10 °C abaixo da T_g (BELLATONE, 2014).

Sistemas amorfos possuem excesso de entropia, entalpia, energia livre e mobilidade molecular aumentada em comparação aos seus homólogos cristalinos. Características essas que, por um lado, desempenham importante papel na velocidade de dissolução e solubilização de fármacos. Por outro lado, desempenham um papel crucial na instabilidade desses sistemas, uma vez que, não estando em equilíbrio, a forma amorfa tende a relaxar em direção a baixa entalpia e entropia configuracional, aumentando a densidade e recrystalizando. Devido a essas características, sistemas amorfos são considerados metaestáveis. Até o momento, os fatores que governam o processo de recrystalização não estão bem esclarecidos. Inicialmente, pensava-se que o armazenamento de um sistema amorfo 50 °C abaixo da sua T_g poderia

assegurar uma estabilidade suficiente, como a mobilidade molecular era considerada insignificante a esta temperatura. No entanto, esta regra nem sempre se aplica e a recristalização ainda pode ocorrer a temperaturas muito abaixo da T_g . Dessa forma, justifica-se o uso de aditivos (polímeros ou surfactantes) que possam melhorar a estabilidade desses sistemas amorfos (LAITINEN et al., 2012; YOSHIOKA; HANCOCK; ZOGRAFI, 1994)

2.3 DISPERSÕES SÓLIDAS

A estabilização de sistemas amorfos encontra-se vastamente reportada na literatura através da obtenção de DS (LEUNER; DRESSMAN, 2000; VAN DER MOOTER, 2011; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). O termo DS, introduzido por Chiou e Riegelman em 1971, abrange uma gama de diferentes formulações contendo um fármaco disperso em uma matriz inerte, tipicamente açúcares hidrossolúveis, polímeros ou tensoativos. As DS podem estar no estado cristalino ou amorfo (VO; PARK; LEE, 2013; WILLIAMS et al., 2013). Nas DSA, geralmente, a mobilidade molecular é reduzida através de interações intermoleculares entre o fármaco e o carreador, reduzindo modificações na estrutura amorfa e evitando a recristalização durante o armazenamento (WILLIAMS et al., 2013).

O uso de polímeros como aditivo pode melhorar a estabilidade de sólidos amorfos através do aumento da T_g do sistema resultante. O aumento da T_g proporciona uma diminuição na mobilidade molecular do fármaco (efeito anti plastificante). Já a formação de interações específicas fármaco-polímero atua na diminuição das interações específicas fármaco-fármaco impedindo a estruturação do sistema cristalino (LIU; TAYLOR; EDGAR, 2015).

No estado amorfo, a desordem no empacotamento molecular enfraquece a energia média de atração entre moléculas do fármaco, que por sua vez diminui a energia de ativação para a solvatação. Já em DSA, o empacotamento molecular é interrompido por dispersar as moléculas do fármaco em uma matriz sólida. A redução da energia necessária para alcançar a região dispersiva (dissolução) ocorre através da inserção de moléculas do carreador entre as moléculas de fármaco, nas quais as interações fármaco-carreador ou são mais fracas que as interações fármaco-fármaco, ou as interações carreador-água são mais fortes que as interações fármaco-água. O primeiro caso, reduz a energia requerida para deslocar o fármaco e alcançar a solubilização, e o segundo aumenta

a energia obtida a partir das interações carreador-água para dissolver as moléculas do fármaco (BELLATONE, 2014).

2.3.1 Classificação das dispersões sólidas

As DS podem ser classificadas em quatro gerações. As DS de primeira geração eram dispersões cristalinas. Sekiguchi e Obi (1961) desenvolveram a primeira DS utilizando o carreador ureia para formar um mistura eutética com o fármaco sulfatiazol. Em uma mistura eutética, o ponto de fusão da mistura é menor que o ponto de fusão do fármaco e do carreador isolados. No entanto, quando a mistura entre o carreador e o fármaco não ocorria exatamente no ponto eutético da composição um dos componentes, geralmente, cristalizava. Os carreadores utilizados nessa geração eram cristalinos, dentre os quais destacaram-se: a ureia e açúcares, como sorbitol e manitol (VASCONCELOS et al., 2016; VO; PARK; LEE, 2013).

A segunda geração de DS compreende a formação de DSA utilizando carreadores amorfos, geralmente polímeros. Esses carreadores poliméricos amorfos, muitas vezes, aumentam a molhabilidade e taxa de dissolução do fármaco. Estudos recentes ressaltam a importância da seleção de polímeros contendo grupamentos doadores/aceptores de hidrogênio na estabilização de DSA. A força de interações específicas entre fármaco-polímero, como ligações de hidrogênio, pode impactar na capacidade do polímero de evitar o crescimento de cristais, contribuindo com a miscibilidade do sistema e evitando a separação de fases. Polímeros também exercem papel importante como inibidores de precipitação, prolongando e mantendo a condição de supersaturação atingida por sistemas amorfos (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2008; VASCONCELOS et al., 2016; WEGIEL et al., 2014).

A terceira geração compreende DSA compostas por uma combinação de carreadores amorfos e mais preferivelmente uma combinação de carreadores e agentes tensoativos. A incorporação de surfactantes em DS pode muitas vezes contribuir com o aumento da solubilidade e permeabilidade de fármacos pouco solúveis. Neste contexto, a capacidade destes em reduzir a tensão de superfície, formar micelas e interagir com transportadores das membranas celulares pode culminar em um aumento da biodisponibilidade oral do fármaco. Além disso, relatos da literatura afirmam que os surfactantes também são capazes de retardar o processo de nucleação e crescimento do cristal em sistemas que produzem supersaturação. A capacidade de solubilização

poderia aumentar a energia requerida para dessolvatação das moléculas durante a nucleação e crescimento destes cristais, além de diminuir o grau de supersaturação através da solubilização micelar de compostos fracamente solúveis (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; JANSSENS; VAN DER MOOTER, 2009; NEWMAN; KNIPP; ZOGRIFI, 2012). Ressalta-se ainda a característica plastificante dos surfactantes, muitas vezes requerida em técnicas como extrusão por fusão ou *spray drying*. Nessas técnicas, surfactantes podem ser adicionados para aumentar a miscibilidade e reduzir a viscosidade do polímero, melhorando assim as condições de trabalho do sistema (LIU; TAYLOR; EDGAR, 2015; NEWMAN; KNIPP; ZOGRIFI, 2012).

A quarta geração engloba DS de liberação prolongada (DSLP) contendo fármacos pouco solúveis em água com uma meia-vida biológica curta. Em uma DSLP, a dispersão molecular do fármaco nos carreadores melhora a solubilidade deste, enquanto que o uso de polímeros insolúveis em água ou polímeros dilatáveis pode retardar a libertação do fármaco no meio de dissolução. As DSLP podem proporcionar uma adequada liberação do fármaco em tempo prolongado e, assim, oferecer vantagens como uma melhor aceitação pelo paciente devido a redução da frequência de dosagem e diminuição de efeitos secundários (VO; PARK; LEE, 2013).

2.4 A TÉCNICA DE *SPRAY DRYING* NA OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS

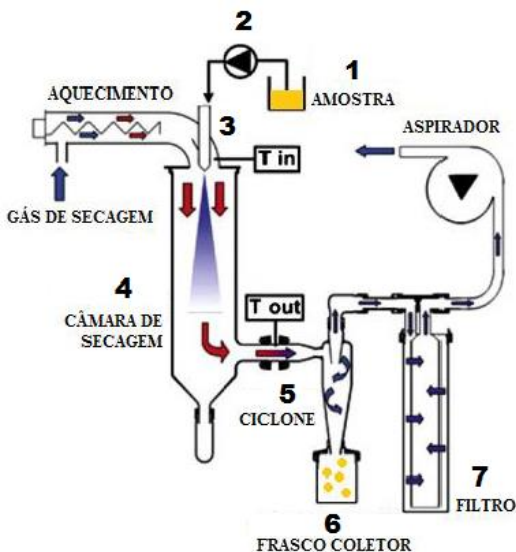
Em geral, as tecnologias utilizadas no desenvolvimento de DSA são divididas em duas classes principais: método de evaporação de solvente e método de fusão. No método de fusão incluem-se a extrusão por fusão, granulação por fusão, co-moagem, etc. Já no método de evaporação de solvente situam-se as técnicas de *spray drying*, liofilização, leito fluidizado, fluido supercrítico, co-precipitação, entre outras (HU et al., 2014).

A técnica de secagem por atomização, conhecida como *spray drying* é amplamente utilizada na indústria e recebe destaque entre as técnicas utilizadas na obtenção de DSA. Nesta técnica, uma solução de fármaco e polímero (s) é pulverizada em uma corrente de ar quente que induz à uma rápida evaporação do solvente e à produção de partículas sólidas homogêneas, compostas por um fármaco e carreador (es), no estado amorfo (SINGH; VAN DER MOOTER, 2016).

O processo de secagem por *spray drying* ocorre sequencialmente em várias etapas envolvendo os componentes de 1 a 6 (Figura 5).

Primeiramente uma solução/suspensão é bombeada para dentro da câmara de secagem através de um atomizador (componentes 1, 2 e 3). No atomizador, gotículas da solução são atomizadas ao entrar em contato com o fluido de secagem, gás quente (muitas vezes ar), no interior da câmara de secagem (componente 4). O tempo de permanência no interior da câmara de secagem depende dos parâmetros do processo, das dimensões do equipamento e normalmente dura poucos milissegundos. Finalmente, o material seco é separado do meio de secagem através do ciclone (componente 5) e recolhido num dispositivo coletor (componente 6). A exaustão do gás ocorre através do filtro (componente 7; SINGH; VAN DER MOOTER, 2016).

Figura 5 - Representação esquemática do processo de secagem pela técnica de *spray drying*.



Fonte: Adaptado de Pentewar, Somwanshi e Sugave (2014).

Alguns parâmetros são considerados extremamente relevantes no processo de secagem por *spray drying* podendo afetar variáveis no produto final como: tamanho de partícula, porosidade, teor de umidade e rendimento. Entre estes parâmetros incluem-se: temperatura de entrada, taxa de alimentação da solução, fluxo do gás de secagem, características do atomizador, teor de sólidos em solução, viscosidade ou tensão superficial. O aumento do tamanho dos bicos de atomização influencia

altamente na formação de partículas de DSA, em particular aumentando o tamanho da partícula e modificando a textura da superfície. Além disso, um aumento no teor de sólidos pode também afetar a viscosidade da solução e, conseqüentemente, aumentar o tamanho de partícula e o teor de umidade do produto final (DOBRY et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2016).

A seleção de carreadores também tem influência sobre as propriedades do produto final, particularmente no grau de amorfização, estabilidade física, química e molhabilidade. Os carreadores usados na preparação de DS através de secagem por *spray drying* são geralmente os mesmos utilizados em outras metodologias, sendo que nesse caso em especial podem ser usados polímeros com elevado ponto de fusão ou transição vítrea. Os polímeros mais frequentemente empregados são: polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicol (PEG), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidroxipropilcelulose (HPC), crospovidona, hidroxipropilmetilcelulose succinato acetato (HPMC-AS), polietileno-óxido (PEO), Eudragit® RL ou RS, carbopol, quitosana, entre outros. Já entre os surfactantes citam-se poloxamer, lauril sulfato de sódio (LSS), polisorbato 80, Compritol® 888 ATO, Inutec®, Gelucire®, polivinil caprolactama-polivinil acetato-polietilenoglicol (Soluplus®), entre outros (SINGH; VAN DER MOOTER, 2016; VASCONCELOS; DAS NEVES; SARMENTO, 2016,).

A técnica de *spray drying* apresenta como vantagem a produção eficaz de pequenas quantidades de amostras no desenvolvimento laboratorial, além de permitir o escalonamento da produção a níveis industriais. Este processo pode gerar partículas nano ou micrométricas com uma distribuição estreita de tamanho num curto espaço de tempo. Neste sentido, a correta seleção dos parâmetros do processo, aliados a uma escolha racional de polímeros e surfactantes podem conduzir a obtenção de DSA promissoras na melhoria da biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis. Atualmente, diversas DS de fármacos pouco hidrossolúveis, desenvolvidas pela técnica *spray drying*, estão disponíveis no mercado farmacêutico. Algumas destas são: Sporanox® (itraconazol), Prograf™ (tacrolimo), Crestor® (rosuvastatina), Intelence® (travirine), Modigraf® (tacrolimo), Zotress™ (everolimus), Incivek™ (telaprevir), Kalydeco® (ivacaftor), Orkambi® (lumacaftor/ivacaftor), entre outros (BAGHEL; CATHCART; O'REILLY, 2016; HA et al., 2014; SINGH; VAN DER MOOTER, 2016; VASCONCELOS et al., 2016).

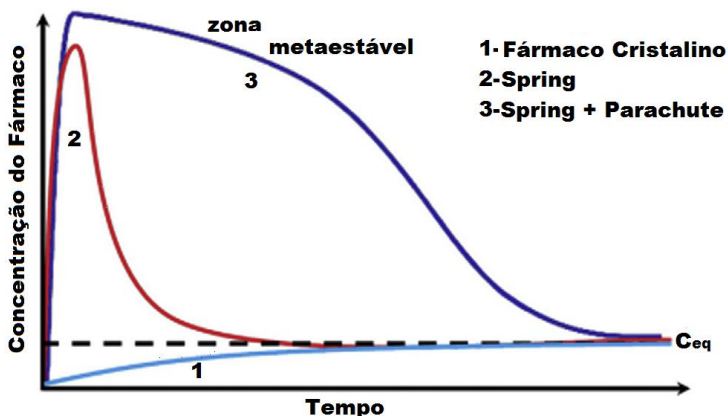
2.5 DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMAS SUPERSATURADOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS (SDDS)

Historicamente, as abordagens para aumentar a absorção de fármacos pouco solúveis em água giravam em torno de esforços para aumentar a solubilidade de equilíbrio aparente no trato gastrointestinal ou para aumentar a velocidade de dissolução. No entanto, estudos recentes tem demonstrado que o aumento da solubilização intestinal necessário pode ter caráter temporário, principalmente para fármacos altamente permeáveis. A manutenção de um estado de supersaturação intraluminal temporário (onde a concentração do soluto em solução é superior a solubilidade de equilíbrio termodinâmica) pode ser suficiente para promover absorção de fármacos SCB II e IV. A absorção destes fármacos pode estar limitada pela concentração intraluminal máxima alcançada (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; WARREN et al., 2010).

A condição de supersaturação pode ocorrer fisiologicamente com fármacos classificados como bases fracas. Esses possuem uma maior solubilização no estômago devido ionização em baixo pH, porém podem precipitar na passagem para o intestino delgado onde o pH é mais alto. A supersaturação também pode ser proporcionada pelo uso de sistemas supersaturados de liberação de fármacos (SDDS, no inglês *supersaturating drug delivery systems*), como as DS. Os SDDS são considerados atualmente como uma nova promessa para permitir a absorção intestinal de fármacos pouco solúveis através da formação de uma solução supersaturada no ambiente gastrointestinal, mantida por um tempo prologando (BEVERNAGE et al., 2013).

O conceito de sistemas supersaturados foi introduzido por Guzmán e colaboradores (2004), que descreveu esta supersaturação através dos termos “spring” e “parachute” (Figura 6). “Spring” está associado à supersaturação promovida pela forma metaestável do fármaco. Essa forma altamente energética proporciona a força motriz para uma solubilização do fármaco numa concentração superior à sua solubilidade de equilíbrio (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; GUZMÁN et al., 2007; RODRIGUEZ-HORNEDO; MURPHY, 1999).

Figura 6 - Representação das abordagens de “Spring” e “parachute” de sistemas capazes de causar supersaturação durante a dissolução, concentração aquosa do fármaco versus tempo. Perfil 1: dissolução do fármaco cristalino, perfil 2: dissolução de um sólido amorfo na ausência de inibidor de precipitação (spring), e o perfil 3: dissolução de DS amorfa na presença de inibidor de precipitação (parachute). C_{eq} representa a solubilidade de equilíbrio do fármaco na fase aquosa.



Fonte: Adaptado de Brouwers, Brewster e Augustijns (2009).

A solução supersaturada possui um potencial químico aumentado em comparação à condição de equilíbrio (solução saturada), tornando-se assim termodinamicamente instável e tendendo a regressar ao equilíbrio (potencial químico mais baixo). Essa diferença de potencial químico serve como força motriz para a precipitação (recristalização) do fármaco, a qual consiste essencialmente em dois processos: nucleação e crescimento dos cristais (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; GUZMÁN et al., 2007; RODRIGUEZ-HORNEDO; MURPHY, 1999).

A energia de ativação necessária para a nucleação pode ser atribuída a alta tensão interfacial entre o solvente e pequenos aglomerados com alta curvatura. Após ultrapassar a barreira da energia de nucleação, os aglomerados podem crescer à cristais macroscópicos. Esse crescimento envolve a difusão das moléculas de uma solução supersaturada para a interface cristalina, e a integração dessas moléculas na estrutura do cristal (a qual é acompanhada pela dessolvatação). Em caso de alta energia de ativação, pode não haver formação de novos cristais e a solução permanece em uma zona metaestável (BROUWERS;

BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; GUZMÁN et al., 2007; RODRIGUEZ-HORNEDO; MURPHY, 1999).

Geralmente, o aumento dessa zona mestaável é atingido pela adição de "parachute". Esse termo "parachute" refere-se aos aditivos que podem ser utilizados para inibir ou retardar a recristalização do fármaco em solução, no intuito de prolongar o estado de supersaturação (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; GUZMÁN et al., 2004). Esses inibidores de precipitação, como polímeros e surfactantes, podem agir através de diversos mecanismos como:

- redução do grau de supersaturação através do aumento da solubilidade (inibindo a nucleação e crescimento dos cristais);
- aumento da viscosidade, resultando em uma redução na mobilidade molecular (diminuindo a nucleação) e coeficiente de difusão (diminuição do crescimento do cristal);
- aumento da energia interfacial entre aglomerado e o solvente (diminui a nucleação);
- alteração da camada de adsorção da interface cristalina, por exemplo, pela adsorção do "parachute" sobre a superfície do cristal impedindo assim o crescimento dos cristais; este fato pode ser acompanhado de modificações hábito cristalino;
- alteração do nível de solvatação da interface cristalina, afetando assim a integração das moléculas à estrutura cristalina (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009).

DS contendo um fármaco fracamente solúvel em água molecularmente disperso em carreador hidrofílico (amorfo ou cristalino), muitas vezes levam a um aumento da velocidade de dissolução e produção de supersaturação do fármaco em meio aquoso. Diversos fatores contribuem para essa condição de supersaturação, tais como a alta energia livre do sistema, melhoria da molhabilidade do fármaco pelo polímero, redução do tamanho de partícula, separação das moléculas do fármaco por moléculas do polímero e a subsequente prevenção da precipitação do fármaco em meio aquoso (LAITINEN et al., 2014). No entanto, o desenvolvimento e otimização de DS como SDDS requer uma avaliação em ensaios de dissolução que mimetizem as condições *in vivo* proporcionadas pelo uso desses sistemas (BEVERNAGE et al., 2013; BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009).

2.5.1 Avaliação *in vitro* de SDDS

A avaliação de estudos de pré formulação, geralmente, envolve o uso de métodos de dissolução *in vitro* adaptados de compêndios oficiais, os quais utilizam condições *sink*¹, com grandes volumes de meios ou altas concentrações de surfactantes. No entanto, a avaliação de SDDS, exige a aplicação de condições não-*sink* na dissolução, as quais utilizam pequenos volumes de meio de dissolução, e permitem a avaliação da supersaturação e precipitação induzida por SDDS. A alta correlação *in vivo/in vitro* obtida por condições não-*sink* tem sido amplamente relatada na literatura (BEVERNAGE et al., 2013; BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; CARLERT et al., 2010; GUZMÁN et al., 2007).

Outras considerações, como a hidrodinâmica do sistema são importantes na avaliação de SDDS visto que esta influencia nos processos de nucleação e crescimento de cristais das moléculas, como observado por Carlert e colaboradores (2010). Ao comparar o método de dissolução usando dissolutor ou *shake-flask*, este estudo demonstrou que o método de *shake-flask* subestimou a precipitação *in vivo*. Alonzo e colaboradores (2010) observaram diferenças na cinética de recristalização de felodipino amorfo em diferentes temperaturas. O felodipino amorfo exibe condição de supersaturação durante dissolução a 25 °C mas não a 37 °C. Este fato, ressalta a importância de avaliar-se a dissolução de SDDS *in vitro* na temperatura que melhor simula a condição *in vivo*. Características como a transição de pH do meio de dissolução devem ser consideradas para bases fracas. Para outros fármacos, é importante avaliar a supersaturação não somente nas condições gástricas, mas também intestinais, visto que o intestino delgado é o principal sítio de absorção transepitelial de diversos fármacos (BEVERNAGE et al., 2013).

A constituição dos fluídos gastrointestinais, tal como a presença de sais biliares e fosfolipídios, também exerce influência na supersaturação e precipitação de fármacos. A literatura relata que sais biliares e fosfolipídios podem atuar como tensoativos naturais, promovendo a solubilização de fármacos, diminuindo o grau de supersaturação e alterando a cinética de recristalização. Interações entre os componentes gastrointestinais, solução supersaturada do fármaco e

¹ condição *sink*: pode ser definida como uma quantidade de solvente não inferior a 3 vezes o volume de meio necessário para obter a solução saturada de fármaco (ABDOU, 1989).

crescimento de cristais podem também ocorrer. Dessa forma, justifica-se o uso de métodos de dissolução utilizando meios biorrelevantes (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; MAH et al., 2016).

Meios biorrelevantes são meios nos quais as condições utilizadas são próximas às fisiológicas. A composição desses meios biorrelevantes de dissolução é baseada na composição de fluidos aspirados gástricos e intestinais de homens e mulheres. Esta composição está descrita na literatura, sendo possível desenvolvê-los, ou até mesmo adquiri-los de empresas que já os comercializam prontos. O uso destes meios biorrelevantes é recomendado para se obter uma melhor correlação *in vivo/in vitro* (DRESSMAN; THELEN; JANTRATID, 2008; JANTRATID; DRESSMAN, 2009). Em relação à simulação de precipitação no ambiente gástrico, o uso de meio biorrelevante simulando o meio gástrico em jejum (FaSSGF), contendo pequenas quantidades de lecitina e taurocolato, é encorajado pela literatura (VERTZONI et al., 2007). O meio biorrelevante simulando o intestino em jejum (FaSSIF) é relatado como capaz de prever razoavelmente bem o comportamento de precipitação em fluídos humanos no estado de jejum. Para o estado alimentado, em contraste, o uso de meio biorrelevante simulando intestino no estado alimentado (FeSSIF) pode ainda subestimar significativamente a precipitação. Ressalta-se, assim, a importância do uso de métodos de dissolução *in vitro* cada vez mais preditivos das condições *in vivo* na avaliação de SDDS. Esses métodos podem fornecer uma melhor compreensão dos mecanismos de supersaturação e inibição da precipitação de sistemas amorfos (BEVERNAGE et al., 2013, BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009).

2.6 PARÂMETRO DE SOLUBILIDADE DE HILDEBRAND

Os parâmetros de solubilidade (ou densidade de energia coesiva) são amplamente utilizados para descrever as forças de coesão em materiais e têm sido usados para descrever muitas propriedades físicas de um material e prever interações entre materiais (FEDORS, 1974; HANCOOK; YORK, ROWE, 1996). Alguns relatos da literatura propõem a aplicação de modelos teóricos, como o cálculo dos parâmetros de solubilidade, para prever a compatibilidade fármaco/carreador e facilitar a escolha dos carreadores para a obtenção de DS (FEDORS, 1974, HANCOOK; YORK, ROWE, 1996, GHEBREMESKEL; VEMAVARAPU; LODAYA, 2007).

O cálculo da densidade de energias coesivas (DEC) e do parâmetro de solubilidade foi desenvolvido por Hildebrand e Scott (1950) com base na teoria das soluções regulares. Soluções regulares são aquelas nas quais o soluto e solvente possuem tamanho comparáveis e há efeitos de ordenamento do solvente em torno do soluto. A entropia de solubilização é igual a de uma solução ideal. A entalpia de solubilização (ΔH_{dissol}) é sempre positiva e pode ser calculada a partir de propriedades do soluto e do solvente. Se a fração volumétrica do solvente for ϕ_1 , o volume molar do solvente V_2 e a energia livre de vaporização for ΔE_V , o modelo das soluções regulares leva à equação 2.

$$\Delta H_{\text{dissol}} = V_2 \phi_1^2 \left[\left(\frac{\Delta E_{V1}}{V_1} \right)^{0,5} - \left(\frac{\Delta E_{V2}}{V_2} \right)^{0,5} \right] \quad (2)$$

A razão entre a energia de vaporização e o volume molar, expressa entre parênteses na equação 2, é denominada densidade de energia coesiva (DEC). Esta é a quantidade de energia necessária para superar interações intermoleculares que mantêm as moléculas coesas por unidade de volume de uma substância (NETZ; ORTEGA, 2008). A energia de coesão é o efeito líquido de todas as interações inter atômicas/moleculares, incluindo interações de Van der Waals, ligações covalentes, ligações iônicas, ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, interações dipolo induzido e dipolo permanente (HANCOOK; YOR.; ROWE, 1996). Uma compreensão da DEC pode ser importante para explicar ou prever como substâncias se comportarão quando submetidas a tensões externas, tais como calor, luz ou mecânica. Os valores de DEC podem ser calculados através da energia de vaporização molar ΔE_V e volume molar (V_m), através da equação 3.

$$DEC = \frac{\Delta E_V}{V_m} \quad (3)$$

A raiz quadrada de DEC é chamada de parâmetro de solubilidade (δ), apresentada na equação 4. Em caso de substâncias com δ semelhantes, os valores de ΔH_{dissol} ficam fracamente positivos e próximos a zero, sendo a dissolução espontânea. Se dois componentes têm δ semelhantes, eles são susceptíveis de serem solúveis um no outro, uma vez que as interações em um componente serão similares a do outro componente e a energia total necessária será pequena (GHEBREMESEKEL; VEMAVARAPU; LODAYA, 2007; NETZ; ORTEGA, 2008).

$$\delta = (DEC)^{0,5} = \left(\frac{\Delta Ev}{Vm}\right)^{0,5} \quad (4)$$

O parâmetro de solubilidade possui aplicação para materiais de baixo peso molecular e polímeros (FEDORS, 1974; HANCOOK; YORK; ROWE, 1996) e pode ser avaliado por diversos métodos como cromatografia gasosa inversa (PICCINI et al., 2015), sublimação, evaporação, partição, solubilidade, viscosidade (MADSEN et al., 2015), calorimetria, tensão superficial, softwares (GHEBREMESKEL; VEMAVARAPU; LODAYA, 2007) ou por cálculos usando métodos de contribuição de grupos funcionais (FEDORS, 1974). Neste último método, o cálculo da energia de vaporização molar (ΔE_v) de um material envolve o somatório da entalpia de vaporização molar de fragmentos estruturais do material. O volume molar do material (V_m) é derivado da sua densidade e massa molar (massa molar/densidade) ou pode ser calculado usando o volume do fragmento molecular presente no material numa forma aditiva semelhante para o cálculo da energia de vaporização. O cálculo do parâmetro de solubilidade para moléculas de baixa massa molar e polímeros pode ser realizado atribuindo-se os valores de contribuições de grupo para energia de vaporização e volume molar relatados na literatura por Fedors (1974).

Os compostos podem ser classificados com base na variação entre seus parâmetros de solubilidade ($\Delta\delta$) de acordo com a equação 5.

$$\Delta\delta = \delta_{Composto\ 1} - \delta_{Composto\ 2} \quad (5)$$

Compostos com valores de δ semelhantes, $\Delta\delta < 7,0\text{ MPa}^{1/2}$, são considerados susceptíveis a serem miscíveis, uma vez que a energia necessária para a mistura dos componentes pode ser compensada pela energia libertada pelas interações entre os componentes (LAITINEN et al., 2014; NETZ; ORTEGA, 2008). Quando $\Delta\delta < 2,0\text{ MPa}^{1/2}$ estes compostos podem formar uma solução sólida enquanto que compostos com um $\Delta\delta > 10\text{ MPa}^{1/2}$ são susceptíveis a serem imiscíveis (GREENHALGH et al., 1999; LAITINEN et al., 2014).

2.7 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Na indústria farmacêutica, muitas vezes, formuladores enfrentam o desafio de encontrar a combinação apropriada de variáveis

independentes (fatores), de processo e de formulação, que irão gerar um produto com as melhores propriedades. A experimentação pode ser definida como uma investigação de uma determinada área com um objetivo, usando instrumentos adequados e tirando conclusões que são justificadas pelos dados experimentais obtidos. A maioria das experiências consistem em medir o efeito que um ou mais fatores têm sobre os resultados experimentais. Os fatores são as variáveis independentes, e o resultado é a resposta ou variável dependente. No entanto, a realização de experimentos é considerada um processo oneroso em termos de tempo, força de trabalho e recursos. Os delineamentos experimentais são considerados eficazes em estimar a influência das variáveis de processo individuais com experimentação e tempo mínimos, em que todos os fatores são estudados em todas as combinações possíveis (ACHARYA; PATRIA; PANI, 2014; ARMSTRONG, 2006; MALAKAR; NAYAR, 2012).

No delineamento experimental, dados multivariados podem ser incluídos em uma função empírica, geralmente linear ou quadrática, com termos de interação, que podem ser usados para fornecer informações sobre o sistema (máximos e mínimos, tendências quando os parâmetros são mudados, etc.). Essas informações obtidas podem ser usadas para melhorar a performance funcional de produtos, reduzir taxas de desperdício, taxa retrabalho, tempo do ciclo de desenvolvimento do produto e a variabilidade excessiva nos processos de produção, entre outros (ANTONY, 2014).

Alguns princípios do delineamento experimental, como aleatorização e replicação, podem ser utilizados em experiências industriais para melhorar a eficiência da experimentação. Estes princípios são aplicados para reduzir ou até mesmo eliminar viés experimental. A aleatorização da ordem de experiências garante, na medida do possível, que todas as variáveis não controladas contribuam para a variância da repetibilidade e não afetem os resultados de uma forma sistemática. Já a replicação permite a obtenção de uma estimativa do erro experimental, bem como permite uma estimativa mais precisa do efeito do fator/interação. Se o número de repetições for adequado, seguramente pode-se fazer inferências satisfatórias sobre o efeito de fatores/interações (ANTONY, 2014; HIBBERT, 2012).

Atualmente, existe uma forte tendência ao uso de metodologias para o delineamento experimental racional, tais como planejamentos fatoriais e metodologia de superfície de resposta. Planejamentos fatoriais envolvem a variação de duas ou mais variáveis experimentais (fatores) investigadas em dois ou mais níveis. A técnica estabelece a

ordem de importância relativa dos fatores e pode também indicar se fatores interagem e se essas interações são significativas. Após o conhecimento do domínio experimental, e das variáveis que exercem maior influência nas repostas, pode-se empregar metodologias mais complexas, tais como a metodologia de superfície de resposta. Esta, basicamente, adiciona diversos pontos intermediários no domínio experimental de tal forma que se permita traçar um gráfico de superfície em função do comportamento das repostas, denominado “superfície de resposta”, também descrito na forma de gráfico de contorno (ARMSTRONG, 2006; MYERS et al., 2009).

2.7.1 Planejamento fatorial

Os delineamentos experimentais mais frequentemente utilizados são fatoriais completos e fracionados em 2 níveis e 3 níveis. O planejamento fatorial permite ao experimentador estudar o efeito de um conjunto dos fatores (ou parâmetros de processo/design) sobre uma resposta (ANTONY, 2014).

Um experimento fatorial completo consiste em todas as combinações possíveis de níveis para todos os fatores. O número total de experiências para estudar K fatores em 2 níveis é 2^K . Ou seja, em um experimento envolvendo dois fatores, a potência 2^2 resulta em 4 experimentos mínimos. O 2^K fatorial total é particularmente útil nas fases iniciais de trabalho experimental, especialmente quando o número de parâmetros de processo ou parâmetros de projeto (fatores) é inferior ou igual a 4. Além disso, é necessário realizar repetições de alguns experimentos para determinação do erro intrínseco do planejamento, caso contrário não será possível determinar as relevâncias estatísticas por análise de variância (ARMSTRONG, 2006).

Os planejamentos fatoriais fracionados são uma maneira de que apenas uma fração da combinação apropriada necessária para 2^K fatorial completo seja selecionada para execução. Fatoriais fracionados são usados quando se quer investigar os fatores K com menor número de experimentos (2^{K-P}), onde P é o fator de redução. Nesses casos, reduz-se o número de experimentos com a redução da capacidade resolutiva do planejamento (ARMSTRONG, 2006; MYERS et al., 2009).

A avaliação dos efeitos médios e interações resultantes de um delineamento experimental fatorial por aplicação de regressão múltipla envolve cálculos complexos, geralmente facilitados pelo uso de softwares. Para traçar os modelos matemáticos que descrevem o domínio experimental é essencial transformar os valores numéricos dos

elementos de codificação antes de regressão. Os fatores codificados são representados por X1, X2, e X3 e a resposta, por Y. Portanto, um modelo que leva em conta todos os efeitos principais e interações pode ser dada pela equação 6:

$$Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + \beta_{23}x_2x_3 + \beta_{123}x_1x_2x_3 \quad (6)$$

Onde, β_0 é o intercepto do modelo, β_1 , β_2 e β_3 são os coeficientes dos fatores primários X1, X2 e X3. β_{12} , β_{13} e β_{23} são coeficientes da interação secundária entre os fatores primários. Da mesma forma, β_{123} é o coeficiente de interação entre os três fatores primários (SILVA, 2013).

2.7.2 Otimização do modelo experimental

Na preparação de um planejamento experimental existem disponíveis diversos algoritmos que ajustam matematicamente a matriz experimental para satisfazer algumas necessidades específicas. Esses algoritmos são usados para calcular quais níveis intermediários são necessários realizar para o cálculo de regressão linear e proporcionam vantagens em relação aos delineamentos tradicionais. O algoritmo *D-Optimal* tem como finalidade a redução da variância na determinação dos coeficientes dos fatores individuais, ou seja, permite conhecer melhor a magnitude da influência de cada fator e suas interações na resposta analisada. Por sua vez, o algoritmo *IV-Optimal* reduz a variação nos valores preditos pelo modelo matemático, permitindo assim um processo de otimização mais confiável (HIBBERT, 2012; JONES; GOOS, 2012; SAMBO et al., 2014).

Em muitos casos, no delineamento experimental apenas variáveis dependentes são de interesse e estes são selecionados de modo que o processo seja maximizado ou minimizado, para obter alguns alvos predeterminados. No entanto, às vezes, duas ou mais respostas podem ser desejadas, sendo que ambas devem ser consideradas. A menos que as duas respostas sejam altamente correlacionadas, é pouco provável que os valores das variáveis independentes necessários para atingir o valor máximo de uma resposta sejam os mesmos para obter o valor máximo de uma segunda resposta. Assim, a solução mais favorável deve ser procurada tendo em conta os valores de ambas as respostas sendo este denominado a melhor solução. Este processo é conhecido como

otimização ou multicritério de tomada de decisão (ARMSTRONG, 2006).

A função desejabilidade (d), do inglês *desirability function*, é uma ferramenta bastante útil na otimização de mais de duas respostas simultaneamente. Essa função calcula índices de desejabilidade individuais para cada resposta no intervalo entre $0 \leq d \leq 1$, sendo que quanto maior o valor de “ d ”, mais ele se aproxima do valor de resposta ideal. Por exemplo, se o objetivo for maximizar uma resposta, o valor ideal será o maior valor alcançado no domínio experimental. Por fim, todos os índices individuais são incorporados em um índice de desejabilidade global D , o qual representa o quanto as condições experimentais trabalhadas satisfazem os pré-requisitos para todas as respostas, conforme a equação 7:

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{1/n} \quad (7)$$

Onde, D é a desejabilidade global, d é a desejabilidade individual e “ n ” é o número de respostas envolvidas. Para o cálculo da função desejabilidade individual de cada resposta são levados em considerações os pesos atribuídos, os quais corrigem a desejabilidade em função da importância que esta resposta apresenta no todo. Dessa forma, é possível priorizar algumas respostas em detrimento de outras no processo de otimização (ARMSTRONG, 2006, SILVA, 2013). Dessa forma, o uso da função desejabilidade no delineamento experimental permite a escolha das melhores condições experimentais para atingir uma ou mais respostas desejadas.

Capítulo II

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE CARREADORES POLIMÉRICOS E SURFACTANTES SOBRE A SOLUBILIDADE APARENTE DA CLORTALIDONA

3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE CARREADORES POLIMÉRICOS E SURFACTANTES SOBRE A SOLUBILIDADE APARENTE DA CLORTALIDONA

3.1 INTRODUÇÃO

Atualmente, aproximadamente 40 % dos fármacos comercializados e a maioria dos fármacos em desenvolvimento apresentam baixa solubilidade em água. Embora importante progresso tenha sido feito quanto à otimização de candidatos a novos fármacos, a baixa solubilidade em água é um desafio ainda presente na descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos (WILLIAMS et al., 2013). Com o intuito de contornar esse problema inúmeras abordagens de formulação e/ou químicas têm sido desenvolvidas. Neste sentido, as DS têm sido amplamente aplicadas para melhorar a taxa de dissolução e biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis em água (SERAJUDDIN, 1999; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Estas utilizam-se da alta energia da forma sólida amorfa, cuja solubilidade teórica é geralmente superior a da forma cristalina, para atingir uma melhoria dissolução desses fármacos pouco solúveis em água.

No entanto, devido à sua instabilidade termodinâmica, formas amorfas tendem a recrystalizar e perdem esse aumento da solubilidade. Por isso, aditivos estabilizantes que impeçam a recrystalização são misturados ao fármaco na obtenção de DSA (CHEN et al., 2015; MURDANDE et al., 2010). Nesses sistemas, o fármaco é geralmente combinado com um polímero solúvel em água para produzir uma mistura amorfa de fase única (PADDEN et al., 2011).

Os tipos mais comuns de DS são combinações binárias, mas, sistemas mais complexos como ternários e quaternários também são produzidos (NEWMANN; MUNSON, 2012). Surfactantes também são comumente adicionados a estes sistemas como agentes solubilizantes, emulsionantes ou plastificantes. Quando incorporado num material polimérico, um plastificante melhora as condições de trabalho e flexibilidade do polímero através do aumento da separação intermolecular das moléculas do polímero. Esses tensoativos podem modificar a hidrofobicidade, a carga superficial e outras propriedades fundamentais que regem processos interfaciais, tais como a floculação/dispersão, flutuação, molhagem e solubilização. A adição de

polímeros e surfactantes podem desempenhar importante papel na prevenção da recristalização de DSA durante o processo de dissolução (GHEBREMESKE; VEMAVARAPU; LODAYA, 2006; KAUR et al., 2012; SRIDHAR et al., 2013; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Neste sentido, ressalta-se a importância da escolha racional do carreador no desenvolvimento de DSA, considerando o melhor grau do polímero, peso molecular, concentração e miscibilidade em relação ao fármaco. Essa miscibilidade fármaco/carreador parece ser essencial para manter a estabilidade física a longo prazo do fármaco amorfo e também manter níveis adequadas de supersaturação após a dissolução (NEWMAN; KNIPP; ZOGRIFI, 2012). Casos de incompatibilidade entre fármaco e carreador podem gerar DSA problemáticas, ocorrendo cristalização irregular, problemas de uniformidade, e possivelmente pouca melhoria na velocidade de dissolução do fármaco (GREENHALGH et al., 1999).

A avaliação de parâmetros de solubilidade, geralmente, faz parte do *screening* envolvendo diferentes carreadores para a obtenção de DS no intuito de prever a compatibilidade fármaco/carreador e facilitar a escolha destes carreadores (FEDORS, 1974; HANCOOK; YORK, ROWE, 1996; GHEBREMESKE; VEMAVARAPU; LODAYA, 2007; NEWMAN, 2015; TRAN et al., 2013).

Este capítulo teve como objetivo a seleção de carreadores poliméricos e surfactantes para a obtenção das DS do fármaco modelo clortalidona.

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Materiais

A CTD, matéria-prima, foi adquirida através da empresa Pharmanostra, proveniente do fornecedor IPCA Laboratories LTD/Índia. O alginato de sódio, (ALG), 200000 g/mol foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich (Alemanha). Os excipientes hidroxipropilmetilcelulose Methocel K100® (HPMC) e o polietileno-óxido Polyox™ (PEO) foram gentilmente doados pela Colorcon®. O polietilenoglicol 1500 (PEG1500) e 4000 (PEG4000) foram adquiridos da empresa Heinrichfarma. O Soluplus® (SOL), polisorbato Kolliphor PS20® (PS20) e poloxamer Kolliphor P188® (P188) foram doados pela empresa BASF®. O lauril sulfato de sódio (LSS) foi proveniente da empresa

Dinâmica® Química Contemporânea Ltda. Os reagentes utilizados foram de grau analítico e/ou grau para uso em CLAE.

3.2.2 Seleção de carreadores poliméricos e surfactantes

Neste trabalho, a seleção dos carreadores para o desenvolvimento das DS foi iniciada através da busca na literatura por polímeros e surfactantes considerados promissores no desenvolvimento de DS, sendo que características específicas como capacidade de formar pontes de hidrogênio e concentração micelar crítica (para surfactantes) foram catalogadas como parte da seleção dos carreadores. Posteriormente, procedeu-se à avaliação dos parâmetros de solubilidade do fármaco e dos polímeros seguida de uma avaliação experimental da influência de polímeros e surfactantes sobre a solubilidade aparente da CTD.

3.2.2.1 Parâmetro de solubilidade de Hildebrand

Neste trabalho foram calculados os parâmetros de solubilidade do fármaco e carreadores poliméricos utilizando o método de contribuição de grupos funcionais. O cálculo do parâmetro de solubilidade foi realizado através da subdivisão da estrutura química da CTD e dos polímeros em grupos funcionais, aos quais foram atribuídos os valores de energia de vaporização e volume molar de acordo com a tabela publicada por Fedors (1974).

A $\Delta\delta$ da CTD com os polímeros foi calculada de acordo com a equação 5.

3.2.2.2 Avaliação da influência dos carreadores poliméricos e surfactantes sobre a solubilidade aparente da CTD

O efeito dos polímeros e surfactantes sobre a solubilidade aparente da clortalidona foi realizado utilizando dissolutor Varian modelo VK 7000/750D. Um excesso de fármaco foi adicionado em cada cuba contendo 275 mL de meio, submetido a agitação de 150 rpm e temperatura constante de 37 °C por 24 horas. Aliquotas dessas amostras foram retiradas em 1, 4, 8, 12 e 24 horas. Estas foram filtradas em membrana de celulose 0,45 μm e quantificadas por metodologia previamente validada de acordo com a ICH Q2 (R1) de 2005.

Como meios foram utilizadas soluções dos diferentes polímeros e surfactantes em tampão fosfato monobásico de sódio, pH 6,8; 25 mM e no tampão isoladamente. Os polímeros avaliados neste estudo, nas

concentrações de 0,3 % e 1 % (p/v), foram os seguintes: ALG, HPMC, PEG1500, PEG4000 e PEO. Entre os surfactantes, foram avaliados as concentrações de 1 % e 2 % (p/v): LSS, P188, PS20 e SOL. Como um segundo passo, foi selecionado a melhor combinação, polímero e agente tensoativo a fim investigar a capacidade desta combinação em melhorar a solubilidade aparente do fármaco.

A quantificação foi realizada por espectrofotometria no ultravioleta (modelo Varian UV/VIS CARY) em $\lambda = 275$ nm, para todas as soluções de polímeros e surfactantes, exceto as soluções contendo SOL, as quais foram quantificadas por CLAE. O método foi adaptado de YOUSSEF e colaboradores (2013). Para tal, utilizou-se cromatógrafo Shimadzu LC -10 com detector UV/VIS, em coluna C18 (250 x 4,6 x 5 mm). Como fase móvel isocrática utilizou-se a mistura de metanol e fosfato sódico dibásico 25mM pH 4,0 (ajustado com ácido fosfórico) na proporção 45:55 (v/v), respectivamente, fluxo de 1,0 mL.min⁻¹, temperatura de 25 °C, λ sw 275 nm e volume de injeção de 20 μ L.

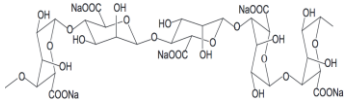
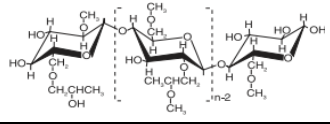
Todos os testes foram realizados em triplicata e os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente empregando análise de variância (ANOVA) sendo considerado significativo quando a probabilidade foi inferior a 5 % ($p < 0,05$; intervalo de confiança de 95 %). A fim de comparar as médias foi utilizado o teste de Tukey.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

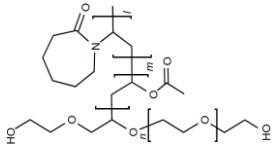
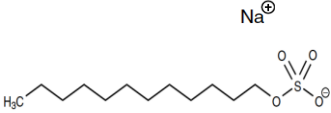
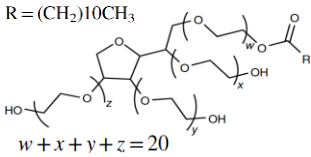
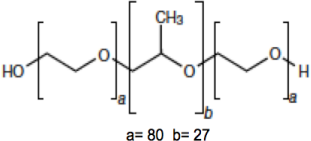
3.3.1 Seleção de carreadores poliméricos e surfactantes

Nos Quadro 1 e Quadro 2 estão descritas algumas características dos polímeros e surfactantes selecionados, respectivamente.

Quadro 1- Características dos carreadores poliméricos. D: doador, A:ceptor.

Polímero	Estrutura química molecular	Nº Hidrogênios	Principais características e DS produzidas com sucesso.	Referências
Alginato de sódio (ALG)		D: 4 A: 7	Polímero na forma de sal sódico, solubilizante, espessante, não tóxico. DS de telmisartana.	BORBA, et al., 2016; PUBCHEM, 2016; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009.
Hidróxipropilmetil celulose (HPMC)		D: 6 A: 9	Polímero hidrofílico solubilizante. DS de indometacina.	PUBCHEM, 2016; TAJIRI et al., 2015.
Polietilenoglicol 1500 (PEG 1500)	$\text{HO}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_m-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{OH}$	D: 2 A: 2	Polímero hidrofílico usado como solubilizante, plastificante, baixa toxicidade. DS de nifedipino.	BLEY; FUSSNEGGER; BODMEIER, 2010; PUBCHEM, 2016; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009.
Polietilenoglicol 4000 (PEG 4000)	$\text{HO}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_m-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{OH}$	D: 2 A: 2	Solubilizante. DS de tadalafila.	OBEIDAT, SALLAM, 2014; PUBCHEM, 2016.
Polietileno óxido (PEO)	$*\left[\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_n^*$	D: 0 A: 1	Polímero espessante, de revestimento. DS de bicalutamida.	ABU-DIAK; JONES; ANDREWS, 2012; PUBCHEM, 2016

Quadro 2- Características dos surfactantes. D: doador, A: aceptor, CMC: concentração micelar crítica.

Surfactante	Estrutura química molecular	Nº Hidrogênios	CMC	Principais características e DS produzidas com sucesso.	Referências
Soluplus® (SOL)		D: 0, A: 3	0,00076	Copolímero anfifílico, plastificante, solubilizante. DSA de itraconazol.	PUBCHEM, 2016; SHAMMA; BASHA, 2012, SURIKUTCHI et al., 2013; ZHANG et al., 2013.
Lauril sulfato de sódio (LSS)		D: 0, A: 4	0,18- 0,23	Solubilizante, plastificante. DS de ciclosporina.	PUBCHEM, 2016; USP 30, 2007; XIA et al., 2016.
Polisorbato 20 (PS20)		D: 3, A: 10	0,07-0,09	Solubilizante. DS de raloxifeno.	PUBCHEM, 2016; TRAN et al., 2013; USP 30, 2007.
Poloxamer P188 (P188)		D: 0 A: 2	0,24-0,32	Copolímero solubilizante. DS de ibuprofeno.	NEWA et al., 2007, PUBCHEM, 2016.

A clortalidona possui grupamentos capazes de doar e receber elétrons. Todos polímeros e surfactantes, presentes nos Quadro 1 e Quadro 2, possuem grupamentos doares e aceptores de elétrons capazes de formar ligações de hidrogênio com a CTD. Sob esse aspecto são considerados aditivos promissores para a obtenção de DSA, visto que é amplamente reportada na literatura que a formação de pontes de hidrogênio fármaco-polímero inibe o processo de nucleação, melhorando a estabilidade de sistemas amorfos (RUMONDOR et al., 2009; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

3.3.1.1 Parâmetro de solubilidade de Hildebrand

A estrutura molecular da CTD (Figura 3) foi subdividida em grupos funcionais. Na Tabela 1, estão expostos os valores de energia de vaporização e volume molar atribuídos a cada grupo funcional, de acordo com os dados relatados por Fedors (1974), e o parâmetro de solubilidade (δ) resultante para a CTD.

Tabela 1 - Cálculo do parâmetro de solubilidade da Clortalidona. ΔE = molar energia coesa, ΔV = volume molar. Todas as contribuições de grupo para a energia de vaporização e volume molar foram obtidos a partir da tabela apresentada por Fedors (1974), os valores aplicam-se a 25 ° C.

representada por 1 e 2 (177,1), os valores aparecem de a 25 °C.

Grupo	ΔE (cal/mol)	$\Sigma \Delta E$ (cal/mol)	ΔV (cm ³ /mol)	$\Sigma \Delta V$ (cm ³ /mol)
1 fenil	7630	7630	52,4	52,4
1 fenil tri substituído	7630	7630	33,4	33,4
1 CONH	8000	8000	9,5	9,5
1 C tetra substituído	350	350	-19,2	-19,2
1 OH	5220	5220	13,0	13,0
1 Cl	2760	2760	24,0	24,0
1 S	3380	3380	12,0	12,0
2 O	800	1600	3,8	7,6
1 NH2	3000	3000	19,2	19,2
ΔE Total (cal/mol)		39570	ΔV Total	151,9
ΔE Total (J/mol)		165402,6		
$\delta = (165402,6 / 151,9)^{1/2} = 33,0 \text{ Mpa}^{1/2}$				

O parâmetro de solubilidade encontrado através deste método foi de 33,0 Mpa^{1/2}. Este resultado é semelhante ao parâmetro de

solubilidade, $32,6 \text{ MPa}^{1/2}$, calculado por GREENHALGH e colaboradores (1999) obtidos por outra metodologia.

Os δ para todos os polímeros avaliados também foram calculados pelo mesmo método (FEDORS, 1974). Os resultados de δ e $\Delta\delta$ com relação a CTD estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Cálculo do parâmetro de solubilidade (δ) para os polímeros e a diferença entre os parâmetros de solubilidade destes com a CTD ($\Delta\delta$). Todas as contribuições de grupo para a energia de vaporização e volume molar foram obtidos a partir da tabela apresentada por Fedors (1974), os valores aplicam-se a 25°C .

Polímeros	$\delta \text{ (MPa)}^{1/2}$	$\Delta\delta$
ALG	30,75	2,25
HPMC	26,12	6,88
PEG1500	26,61	6,39
PEG4000	26,61	6,39
PEO	19,15	13,84

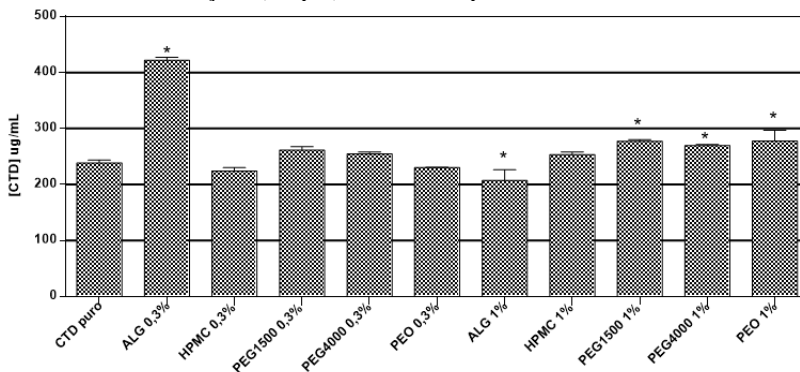
Resultados semelhantes para os δ encontrados neste trabalho são relatados pela literatura para o HPMC, PEG1500 e PEG4000 (HANCOOK; YORK, ROWE, 1996). No entanto, outros métodos relatam δ diferente (20 - 22,9) para o PEO (GUPTA et al., 2011). Os resultados de δ obtidos mostram que os polímeros testados podem ser agrupados em duas categorias com base no $\Delta\delta$. O PEO, na categoria com $\Delta\delta > 10 \text{ MPa}^{1/2}$, mais susceptível a ser imiscível com a CTD, e os polímeros ALG, HPMC, PEG1500 e PEG4000 na categoria com $\Delta\delta < 7 \text{ MPa}^{1/2}$, sendo considerados mais susceptíveis a serem miscíveis. Dentre os carreadores poliméricos avaliados, o ALG é o polímero com parâmetro de solubilidade mais semelhante ao da CTD ($\Delta\delta = 2,25$), teoricamente, com maior capacidade de solubilizar o fármaco.

3.3.1.2 Avaliação da influência dos carreadores poliméricos e surfactantes sobre a solubilidade aparente da CTD

Os resultados da avaliação da solubilidade aparente da CTD frente à presença de diferentes polímeros e concentrações, no tempo de 24 horas, estão apresentados na Figura 7. Cabe aqui ressaltar que todas as concentrações de surfactantes utilizadas estão acima da CMC,

desempenhando a formação micelar importante papel na solubilização do fármaco.

Figura 7 - Solubilidade aparente da CTD ($\mu\text{g/mL}$) na presença de polímeros em diferentes concentrações (%; p/v), $t = 24\text{h}$ em pH 6,8.

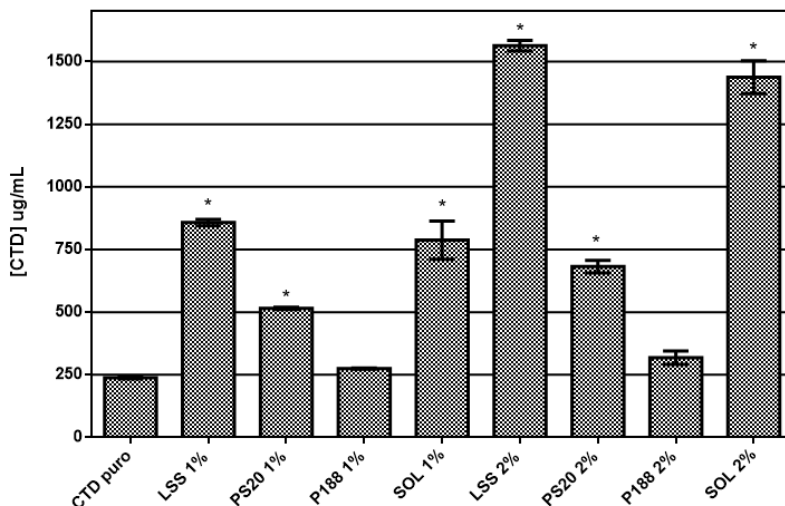


Entre os polímeros, nas concentrações de 1 %, o PEG1500, PEG4000 e PEO apresentaram uma melhora estatisticamente significativa em relação à solubilidade aparente da CTD pura. Sugere-se que o resultado de redução da solubilidade aparente na presença de 1 % de ALG pode estar sendo influenciado pelo aumento da viscosidade da solução em presença de alta concentração deste polímero, já que o melhor resultado alcançado entre todos os polímeros foi na concentração de 0,3 % de ALG, o qual mostrou uma melhora da solubilidade aparente da CTD de $76,96 \pm 2,12$ %. Relatos da literatura, demonstram que a viscosidade de alguns polímeros, como o ALG e HPMC, pode influenciar na taxa de dissolução de fármacos (EFENTAKIS; KOUTLIS, 2001; MITCHELL; REYNOLDS; DASBACH, 2003), visto que a velocidade de dissolução é inversamente proporcional à viscosidade das soluções (ATWOOD; FLORENCE, 2008).

Como esperado, o melhor aumento na solubilidade aparente da CTD foi proporcionado na presença de ALG 0,3 %, corroborando com os resultados encontrados no cálculo dos parâmetros de solubilidade.

Entre os surfactantes testados (Figura 8) destacaram-se o LSS e o SOL, ambos na concentração de 2 %, por demonstrarem melhora acentuada na solubilidade aparente da CTD. O LSS 2 % e o SOL 2 % proporcionaram um aumento da solubilidade do fármaco em torno de $555,57 \pm 8,77$ % e $502,99 \pm 27,61$ %, respectivamente, em 24 h.

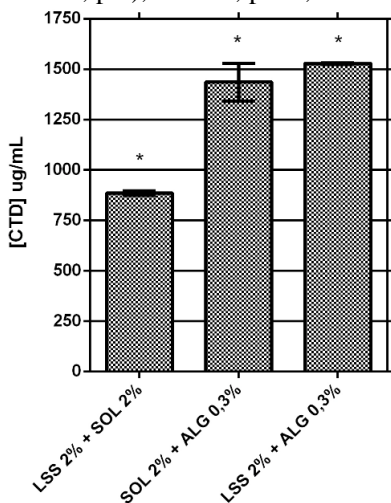
Figura 8 - Solubilidade aparente da CTD ($\mu\text{g/mL}$) na presença de surfactantes em diferentes concentrações (%; p/v), $t = 24\text{h}$, $\text{pH } 6,8$.



Os estudos de solubilidade aparente usando combinações foram realizados entre SOL 2 %, LSS 2 % e ALG 0,3 % (Figura 9). A combinação de SOL 2 % e LSS 2 % proporcionou um aumento da solubilidade aparente da CTD em torno de $270,84 \pm 4,49 \%$. No entanto, essa combinação de surfactantes não obteve efeito sinérgico, ambos os surfactantes apresentaram um desempenho melhor quando utilizados isoladamente. Porém, um estudo recentemente publicado por XIA e colaboradores (2016) relata a formação de complexos SOL-LSS. As regiões hidrofóbicas de LSS podem preferencialmente ser adsorvidas por segmentos hidrófobos de SOL, resultando assim em um aumento da CMC do LSS de 8 mM para cerca de 50 mM. A formação desses complexos parece exercer papel potencialmente importante na manutenção da supersaturação de fármacos com baixa solubilidade aquosa, evitando a precipitação (XIA et al., 2016).

A combinação envolvendo ALG 0,3 % e LSS 2 %, melhorou a solubilidade aparente em $540,17 \pm 1,77 \%$ e a combinação envolvendo SOL 2 % e ALG 0,3 % em $501,74 \pm 39,23 \%$. Estes resultados demonstram que a associação de carreadores poliméricos e surfactantes pode ser interessante e transforma-se em uma alternativa para tentar contornar as limitações biofarmacêuticas da CTD.

Figura 9 - Solubilidade aparente da CTD ($\mu\text{g/mL}$) na presença de combinações dos surfactantes SOL e LSS e do polímero ALG (concentrações em %; p/v), $t = 24\text{h}$, pH 6,8.



3.4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos nesta etapa sugerem que polímeros e tensoativos desempenham um papel importante na solubilidade aparente do fármaco avaliado. Também foi observado que tanto a concentração de polímero quanto a do agente tensoativo tem influência na solubilidade aparente da CTD.

Pode-se concluir, a partir de correlações observadas entre os dados experimentais da influência dos polímeros na solubilidade aparente da CTD e os cálculos dos parâmetros de solubilidade desses compostos, que essas metodologias podem contribuir com a seleção racional de carreadores para a preparação de DS.

Entre os excipientes avaliados nesta etapa, o polímero ALG e os surfactantes, LSS e SOL, apresentam-se como bons candidatos para desenvolvimento de DS promissoras.

Capítulo III

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DE CLORTALIDONA

4 DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DE CLORTALIDONA

4.1 INTRODUÇÃO

Diversos estudos relatam que dispersar molecularmente um fármaco fracamente hidrossolúvel em um veículo hidrofílico (amorfo ou cristalino) leva a um aumento da dissolução deste fármaco, podendo, muitas vezes, causar supersaturação durante a dissolução. Estas propriedades são atribuídas a diversos fatores, tais como a melhoria da molhabilidade do fármaco pelo polímero, a redução do tamanho de partícula, a separação das partículas individuais do fármaco pelas partículas do polímero e prevenção subsequente da precipitação do fármaco após contato com meio aquoso (LAITINEN et al., 2014; SERAJUDDIN, 1999; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

A utilização de DSA vem sendo uma estratégia bastante utilizada para melhorar a dissolução e biodisponibilidade oral de fármacos (KNOPP et al., 2016; PADDEEN et al., 2011). A técnica de *spray drying*, uma das principais técnicas utilizadas para a sua obtenção, permite a evaporação rápida do solvente a partir de gotículas pulverizadas, resultando em produtos amorfos (CHEN et al., 2010; GUPTA; BANSAL, 2005). A secagem por essa técnica é um processo de rotina na maior parte das indústrias e pode combinar várias etapas de desenvolvimento da formulação. A secagem por pulverização de uma solução converte-a na forma de pó num processo de uma única etapa, produzindo excelentes pós finos, ou aglomerados, geralmente ocos e, aproximadamente, de forma esférica com estreita variação de tamanho (BROADHEAD; EDMOND ROUAN; RHODES, 1992; SINGH; VAN DER MOOTER, 2016)

Atualmente, existe uma forte tendência no uso de metodologias para o delineamento experimental racional, tais como planejamentos fatoriais e de metodologia de superfície de resposta. A adoção dessas técnicas estatísticas e matemáticas permite assim reduzir o número de experimentos e extrair o máximo de informações possível, algo crucial em especial nas ciências farmacêuticas, onde os custos de pesquisa e desenvolvimento costumam ser bastante elevados (ARMSTRONG, 2006). O delineamento fatorial é um método eficiente que permite identificar a importância de um conjunto de fatores (ou parâmetros de processo/design), bem como suas interações, sobre uma determinada resposta (ANTHONY, 2014).

O conhecimento das propriedades do estado sólido é de fundamental importância na área farmacêutica uma vez que estas propriedades têm um impacto profundo sobre a solubilidade, biodisponibilidade e estabilidade química dos fármacos (BAGHEL; CATHCART; O'REILLY, 2016; HUANG; TONG, 2004). Características como a cristalinidade, transição vítrea, estrutura de relaxamento, miscibilidade, interações a nível molecular e morfologia das partículas podem ser obtidas através de técnicas do estado sólido como DRXP, DSC, FTIR e MEV. Devido à complexidade da análise de estado sólido, especialmente no estado amorfo, as técnicas são usadas em conjunto, sendo complementares umas às outras (GUO; SHALAEV; SMITH, 2013).

Neste trabalho, a preparação das DS foi obtida pela técnica de *spray drying*. Para tal, um delineamento fatorial foi utilizado a fim de identificar quais os fatores relacionados à composição das DS possuíam impacto significativo sobre a taxa de dissolução *in vitro* e molhabilidade da CTD. A caracterização das DS através de técnicas de caracterização do estado sólido foi realizada a fim de conhecer e avaliar as propriedades das amostras desenvolvidas.

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Materiais

A CTD, matéria-prima, foi adquirida através empresa Pharmanostra, proveniente do fornecedor IPCA Laboratories LTD/Índia. O alginato de sódio, (ALG), 200000 g/mol foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich (Alemanha). O Soluplus® (SOL) foi gentilmente doado pela empresa BASF®. O lauril sulfato de sódio (LSS) foi proveniente da empresa Dinâmica® Química Contemporânea Ltda. Os reagentes utilizados foram de grau analítico e/ou grau para uso em CLAE. A água ultrapura utilizada nas análises foi obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q.

4.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental realizado foi do tipo fatorial *D-optimal*, com o objetivo de avaliar a influência de variáveis sobre os parâmetros avaliados no intuito otimizar os resultados. Quatro variáveis foram avaliadas em dois níveis. Uma dessas variáveis foi o teor de fármaco (A), com os níveis máximo e mínimo de 75 e 25 %,

respectivamente. As demais variáveis consideradas foram os excipientes ALG (B), SOL (C) e LSS (D). Para cada excipiente foi considerado como nível máximo a presença na DS (1) e como nível mínimo a ausência (0). As respostas avaliadas para esse planejamento foram taxa de dissolução *in vitro* e molhabilidade.

O planejamento fatorial *D-optimal* 2⁴ foi desenhado e analisado utilizando o software Design-Expert® 7.0 (Stat-Ease Inc., EUA). As relevâncias estatísticas de termos hierárquicos, interações foram determinadas por meio de análise de variância. Fatores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente relevantes. Termos não relevantes foram excluídos dos modelos matemáticos polinomiais, a menos que estivessem envolvidos em interações como termos hierárquicos. Foram determinados o coeficiente de correlação (R^2) para o modelo matemático e o coeficiente de correlação ajustado (R^2 ajustado), o qual demonstra a variação do modelo ajustado ao número de termos que o integram. Para esses dois coeficientes, uma diferença menor que 0,2 é indicativa de ajuste adequado no modelo (MYERS et al., 2009).

4.2.3 Obtenção das DS

O desenvolvimento das DS foi realizado pela técnica de atomização por *spray drying*. Primeiramente, a CTD (A) foi solubilizada em etanol, sob agitação magnética a temperatura de 60 °C. Os excipientes, polímeros e/ou surfactantes, foram solubilizados em água. Posteriormente, a solução de CTD foi incorporada aos poucos à solução aquosa dos excipientes de modo que a concentração final de etanol fosse 20 %. As formulações foram desenvolvidas conforme as proporções selecionadas no delineamento experimental. As quantidades de cada componente e de solventes utilizados estão descritas na Tabela 3. Uma amostra adicional de CTD foi obtida sob as mesmas condições experimentais em solução etanol/água sem a presença de polímeros e surfactantes. Todas as soluções foram mantidas sob agitação e temperatura constante de 60 °C durante todo o experimento.

As soluções resultantes foram nebulizadas em Mini Spray Dryer Buchi B-290 (Suíça) sob condições pré-estabelecidas em testes anteriormente realizados. A temperatura do ar (entrada) e saída foi de 185 °C e 105 ± 1 °C; respectivamente, fluxo da solução de aproximadamente 4 mL min⁻¹, fluxo de ar 500 L h⁻¹ e aspiração a 100 %. Após a obtenção das DS, todas as amostras foram armazenadas em dessecador, à temperatura ambiente.

Tabela 3 - Composição das DS produzidas. CTD- Clortalidona, CTD A- Clortalidona amorfa, ALG- Alginato de sódio, SOL- Soluplus®, LSS- Lauril sulfato de sódio.

DS	A- CTD (g)	Etanol (mL)	B- ALG (g)	C- SOL (g)	D- LSS (g)	Água (mL)	Volume Total (mL)
F1	2,5	150	0,278	0,278	0,278	600	750
F2	2,5	150	0,000	7,500	0,000	600	750
F3	2,5	150	0,833	0,000	0,000	600	750
F4	2,5	150	0,978	0,000	6,522	600	750
F5	2,5	150	0,000	3,750	3,750	600	750
F6	2,5	300	7,500	0,000	0,000	1200	1500
F7	2,5	150	0,725	0,109	0,000	600	750
F8	2,5	150	0,833	0,000	0,000	600	750
F9	2,5	150	2,500	2,500	2,500	600	750
F10	2,5	150	0,000	0,833	0,000	600	750
F11	2,5	150	0,978	6,522	0,000	600	750
F12	2,5	150	0,109	0,000	0,725	600	750
F13	2,5	150	0,000	0,000	7,500	600	750
F14	2,5	150	0,000	0,000	0,833	600	750
F15	2,5	150	0,000	7,500	0,000	600	750
F16	2,5	150	0,000	0,417	0,417	600	750
F17	2,5	150	0,109	0,725	0,000	600	750
F18	2,5	150	0,000	0,000	7,500	600	750
CTD amorfa	2,5	150	0,000	0,000	0,000	600	750

4.2.4 Ensaio de dissolução *in vitro*

Os ensaios para avaliação do perfil de dissolução *in vitro* das DS foram realizados em dissolutor Varian modelo VK 7000 equipado com o aparato de dissolução II (pá), conforme preconizado na USP 30 NF-25, 2007 para o fármaco CTD. Quantidades das DS equivalente a 50 mg de CTD pura foram pesados com precisão e submetidos a dissolução em 900 mL de meio, a 37 °C e agitação de 75 rpm. Alíquotas de 5 mL foram coletadas nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 minutos. Estas foram posteriormente filtradas em membrana de celulose 0,45 µm e quantificadas em metodologia por CLAE, previamente validada. O

método foi adaptado de YOUSSEF e colaboradores (2013). As análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu LC -10 com detector UV/VIS, coluna C18 (250 x 4,6 x 5 mm), utilizando como fase móvel isocrática a mistura de metanol e fosfato sódico dibásico 25mM pH 4,0 (ajustado com ácido fosfórico) na proporção 45:55 (v/v), respectivamente, fluxo de 1,0 mL.min⁻¹, temperatura de 25 °C, λ de 275 nm e volume de injeção de 20 μ L.

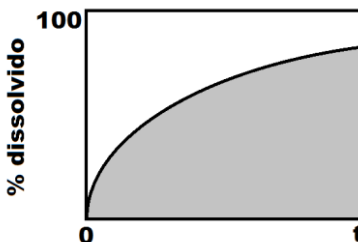
Devido a não ionização da CTD no pH gastrointestinal, o meio de dissolução utilizado foi água ultrapura, o qual já é preconizado pela USP 30 NF-25. A água ultrapura, obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos) foi previamente desgasificada.

A fim de comparar as diversas formulações utilizou-se o cálculo do fator de similaridade. Este foi inicialmente proposto por Moore e Flanner (1996) e atualmente foi adotado pela *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como critério para a verificação da semelhança entre dois perfis de dissolução *in vitro* (ANVISA, 2010; COSTA; LOBO, 2001). O fator de similaridade (f_2) corresponde a uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis e é dado pela equação 7:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\} \quad (7)$$

onde: n = número de tempos de coleta considerados para fins de cálculo de f_2 ; R_t = valor de porcentagem dissolvida no tempo t, obtido com o perfil Referência; T_t = valor de porcentagem dissolvida do perfil Teste, no tempo t. O fator de similaridade abrange valores de resultado entre 0 e 100. Quando ambos os perfis são idênticos o resultado se aproxima de 100 e tende a 0 quando a dissimilaridade aumenta. Este método é mais adequado para comparações de perfis de dissolução quando mais do que três ou quatro pontos no tempo de dissolução estão disponíveis (ANVISA, 2010; ZHANG et al., 2010; COSTA; LOBO, 2001).

Figura 10 - Dissolução de um fármaco a partir de uma forma farmacêutica.



Fonte: Adaptado de Khan, 1975.

A eficiência de dissolução (ED) é um parâmetro utilizado para caracterizar o perfil de dissolução de fármacos, seu conceito foi inicialmente proposto por Khan e Rhodes em 1975. A ED de um produto farmacêutico (equação 8) pode ser definida como a área sob a curva de dissolução do fármaco (área sombreada da Figura 10) em um certo tempo t , expressa pela porcentagem do retângulo correspondente a 100 % de dissolução do fármaco (COSTA; LOBO, 2001; KHAN, 1975; ZHANG et al., 2010).

$$ED (\%) = \frac{\int_0^t y \cdot dt}{y_{100} \cdot t} \quad (8)$$

Ambos os cálculos de fator de similaridade e ED foram realizados utilizando o software DD solver.

4.2.5 Avaliação do ângulo de contato e molhabilidade

Para a determinação do ângulo de contato foi necessária a produção de pastilhas contendo as diferentes DS, com o objetivo de obter uma superfície plana para a deposição do solvente. Embora o ângulo de contato possa sofrer alteração em função de diferentes solventes, a água é regularmente adotada como solução de molhagem no teste (KARAVAS et al., 2006). Neste trabalho utilizou-se como solvente de molhagem água deionizada. As pastilhas das DS foram obtidas utilizando-se uma prensa para comprimir as amostras de pó, a uma pressão de 1 tonelada durante 1 minuto.

As medições foram realizadas em goniômetro modelo OCA 15EC (Filderstadt, Alemanha), acoplado a um sistema processador de imagem de alta resolução Data Physics Instruments. Os ensaios foram realizados a temperatura de 25 °C e o volume de líquido depositado sobre a superfície das pastilhas foi de 5 µL. Os experimentos foram conduzidos em triplicata e resultados apresentados representam a média \pm desvio padrão do ângulo de contato detectado no tempo zero.

4.2.6 Caracterização por técnicas do estado sólido

4.2.6.1 Difração de raios X de pó (DRXP)

Os difratogramas foram obtidos utilizando-se equipamento θ - θ D2 Phaser (Bruker), com uma radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando em uma corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com um detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, em porta amostras com cavidade, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 50°, com step angular de 0,091°s⁻¹.

4.2.6.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os termogramas de DSC foram obtidos utilizando célula de DSC Shimadzu DSC-60. Amostras de aproximadamente 2 mg foram seladas em cadinho de alumínio e submetidas a uma razão de aquecimento de 2 ou 10 °C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio fluxo de 50 mL min⁻¹. A faixa de temperatura analisada foi de 25 a 250 °C, em uma única corrida. A célula de DSC foi previamente calibrada com índio e zinco. Os dados obtidos foram processados em *software* TA-60.

4.2.6.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros na região do infravermelho (FTIR) da CTD, polímero, surfactantes e DS foram obtidos a partir do pó em equipamento PerkinElmer Frontier FT-IR, em uma faixa espectral de 4000-600 cm⁻¹ com resolução espectral de 0,4 cm⁻¹.

4.2.6.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A avaliação da morfologia e tamanho das partículas foram realizadas através da análise de fotomicrografias obtidas por

microscopia eletrônica de varredura em microscópio Jeol, modelo JSM6390LV, sob voltagem de aceleração de 10 kV, em diferentes aumentos. A preparação prévia das amostras das DS envolveu a fixação de partículas destas amostras com fita adesiva dupla face em stubs e recobrimento com ouro em recobridora a vácuo Leica EM SCD 500.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Delineamento experimental

O desenho experimental do planejamento fatorial *D-optimal* 2⁴ com a avaliação dos 4 fatores em 2 níveis resultante esta exposto na Tabela 4. Ao todo foram desenvolvidas 18 DS, sendo 14 com composições diferentes e 4 replicatas. As diferentes combinações entre fármaco, polímero e surfactantes geraram DS binárias, ternárias e quaternárias.

Como respostas, foram avaliados o desempenho destas DS em relação a taxa de dissolução *in vitro* em 90 min e ângulo de contato (molhabilidade) no tempo zero. Os resultados obtidos para as repostas avaliadas através do delineamento experimental estão apresentados na Tabela 4.

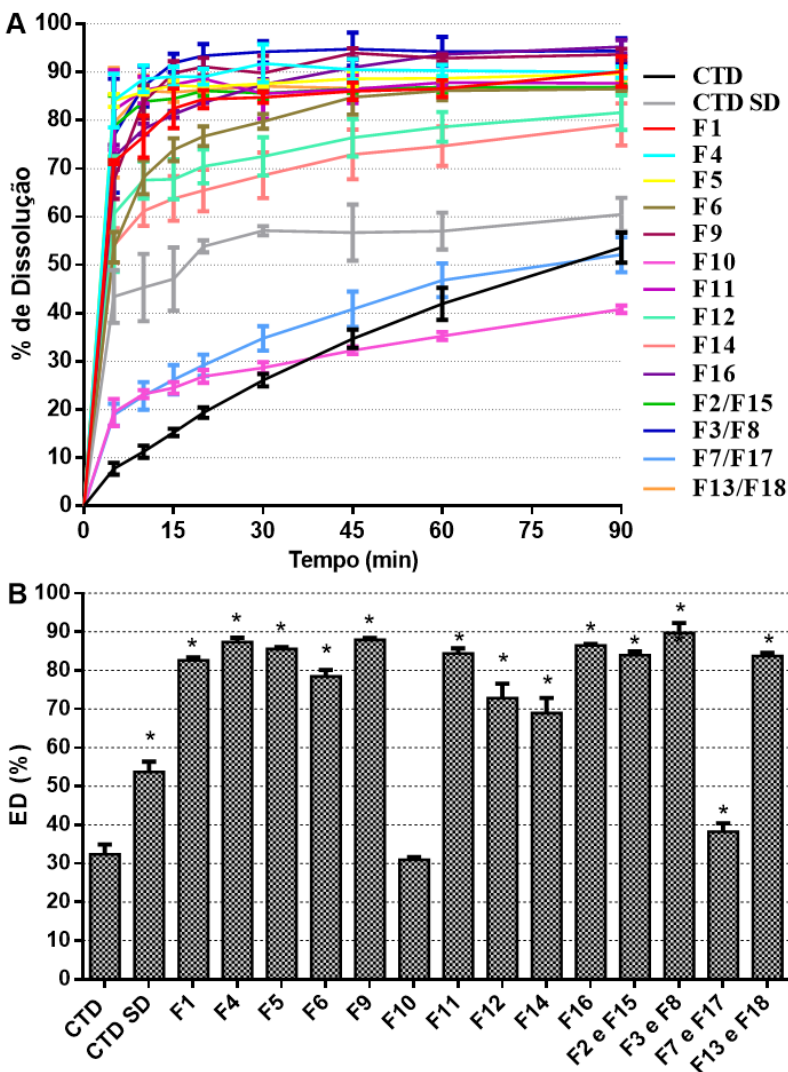
Tabela 4 - Planejamento fatorial *D-optimal* 2⁴. Fatores analisados quanto a composição das DS (DS) : proporção de CTD (níveis: 25 e 75 %), presença dos excipientes ALG, SOL e LSS (níveis: 0 - presença ou 1 - ausência nas DS) e as respostas avaliadas % de dissolução em 90 min (D90min) e ângulo de contato (AC).

DS	Fatores				Respostas	
	A- % CTD	B- ALG	C- SOL	D- LSS	D90min	AC
F1	75	1	1	1	90,09	35,87
F2	25	0	1	0	86,64	73,21
F3	75	1	0	0	94,31	73,08
F4	25	1	0	1	89,97	
F5	25	0	1	1	89,68	53,53
F6	25	1	0	0	86,51	74,26
F7	75	1	1	0	53,36	77,30
F8	75	1	0	0	94,46	71,52
F9	25	1	1	1	93,63	60,30
F10	75	0	1	0	40,82	68,85
F11	25	1	1	0	87,69	77,38
F12	75	1	0	1	81,61	58,10
F13	25	0	0	1	85,75	
F14	75	0	0	1	79,14	68,95
F15	25	0	1	0	87,08	73,94
F16	75	0	1	1	95,23	67,60
F17	75	1	1	0	50,88	78,21
F18	25	0	0	1	87,95	

4.3.2 Ensaio de dissolução *in vitro*

O teste de dissolução *in vitro* tem sido reconhecido como um elemento importante no desenvolvimento de formulações. Sob certas condições, pode ser utilizado como um substituto para a avaliação da bioequivalência, exercendo papel importante no controle de qualidade de medicamentos (COSTA; LOBO, 2001, ZHANG et al., 2010).

Figura 11 - Dados referentes a dissolução das DS, CTD (clortalidona cristalina) e CTD SD (clortalidona amorfa): A) perfis de dissolução B) Eficiência de dissolução. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.



Os perfis de dissolução das DS e eficiência de dissolução estão apresentados na Figura 11. Pode-se observar que diversas DS obtiveram uma importante melhora no perfil de dissolução da CTD.

A fim de comparar estes perfis de dissolução foi realizado o cálculo do fator de similaridade (f_2), o qual está exposto na Tabela 5. De acordo com os órgãos regulatórios, FDA e Anvisa, são considerados semelhantes perfis que apresentam f_2 entre 50 e 100 (ANVISA, 2010, COSTA, LOBO, 2001). Pode-se observar que diversos perfis apresentaram f_2 acima de 50, sendo considerados semelhantes entre si. As DS F10 e F7/F17 (replicatas) obtiveram perfis de dissolução semelhantes à CTD na forma cristalina. A DS F10 não apresentou melhora significativa na taxa de dissolução nem da ED, enquanto que a DS F7/F17 apresentou uma melhora na ED de 5,85 % em 90 min.

Já a CTD SD (amorfa) não apresenta perfil semelhante a nenhuma das DS desenvolvidas. O aumento da ED da CTD SD ($53,75 \pm 2,62$ %), em comparação à CTD cristalina ($32,38 \pm 2,52$ %) demonstra que a técnica de *spray drying* possui impacto bastante positivo na dissolução deste fármaco, mesmo sem a utilização de agentes carreadores. Conforme já relatado na literatura, a secagem por *spray drying* pode modificar alguns parâmetros que influenciam na dissolução de fármacos como tamanho de partícula e cristalinidade (CHEN et al., 2010, MAAS et al., 2011). Na forma amorfa, a orientação molecular randômica como consequência do menor empacotamento molecular em relação à forma cristalina resulta em alta separação molecular e menor força atrativa entre as moléculas. Assim, a uma dada temperatura ou calor, a energia total do sistema amorfo é maior, necessitando de uma menor energia de ativação para atingir a fusão ou uma região dispersiva. Esta baixa energia requerida para atingir uma região dispersiva resulta em rápida dissolução e alta solubilidade uma vez que a transferência de energia é uma função da atração fármaco-solvente e o número de moléculas de solvente que transferem energia para o fármaco não dissolvido (BELLATONE, 2014).

Várias DS proporcionaram um aumento pronunciado na dissolução da CTD, dentre essas pode-se citar a DS F3/F8 (replicatas), contendo 25 % de ALG, que proporcionou a maior liberação do fármaco em 90 min ($94,39 \pm 2,64$ %). Outras DS também apresentaram bons resultados na taxa de dissolução *in vitro* com perfis de dissolução semelhantes ($f_2 > 50$) a F3/F8 (replicatas). Essas DS foram: F1, F4, F5, F9, F11, F16, F2/F15 (replicatas) e F13/F18 (replicatas). Dentre essas DS com maior taxa de dissolução observam-se DS com 75 % de CTD com composição binária (F3/F8), ternárias (F16) e quaternárias (F1), e DS com 25 % de CTD com composição binária (as replicatas F2/F15), ternárias (F4, F5, F11) e quaternárias (F9).

Tabela 5 - Cálculo do fator de similaridade (f_2) entre CTD (Clortalidona cristalina), CTD SD (Clortalidona amorfa) e as DS (F1 a F18) bem como as replicatas F2 e F15, F3 e F8, F7 e F17 e, F13 e F18.

	CTD	CTD SD	F1	F4	F5	F6	F9	F10	F11	F12	F14	F16	F2/ F15	F3/ F8	F7/ F17
CTD SD	30,8														
F1	13,3	27,6													
F4	10,8	22,2	<u>57,2</u>												
F5	11,5	23,4	<u>61,7</u>	<u>81,7</u>											
F6	16,1	35,0	<u>55,1</u>	<u>41,7</u>	<u>43,6</u>										
F9	11,5	24,4	<u>61,4</u>	<u>60,4</u>	<u>59,4</u>	<u>47,0</u>									
F10	<u>53,5</u>	<u>32,1</u>	<u>14,7</u>	<u>12,2</u>	<u>12,9</u>	<u>17,4</u>	<u>12,7</u>								
F11	11,7	23,6	<u>63,1</u>	<u>75,2</u>	<u>87,2</u>	<u>44,4</u>	<u>59,5</u>	<u>13,2</u>							
F12	17,9	38,5	<u>48,9</u>	<u>38,6</u>	<u>40,9</u>	<u>60,6</u>	<u>40,4</u>	<u>19,6</u>	<u>41,7</u>						
F14	20,1	45,4	<u>41,6</u>	<u>33,6</u>	<u>35,4</u>	<u>52,1</u>	<u>35,3</u>	<u>21,9</u>	<u>36,1</u>	<u>67,3</u>					
F16	12,5	27,2	<u>71,7</u>	<u>58,7</u>	<u>61,4</u>	<u>51,4</u>	<u>65,8</u>	<u>13,7</u>	<u>60,3</u>	<u>44,7</u>	<u>38,6</u>				
F2/F15	12,3	25,0	<u>70,5</u>	<u>68,4</u>	<u>77,8</u>	<u>47,6</u>	<u>60,5</u>	<u>13,8</u>	<u>83,2</u>	<u>44,5</u>	<u>38,2</u>	<u>64,4</u>			
F3/F8	10,4	22,1	<u>55,1</u>	<u>69,4</u>	<u>63,4</u>	<u>41,7</u>	<u>70,4</u>	<u>11,6</u>	<u>61,5</u>	<u>37,0</u>	<u>32,5</u>	<u>59,5</u>	<u>59,3</u>		
F7/F17	<u>54,0</u>	<u>33,9</u>	<u>16,7</u>	<u>13,8</u>	<u>14,6</u>	<u>19,8</u>	<u>14,5</u>	<u>59,1</u>	<u>14,9</u>	<u>22,1</u>	<u>24,9</u>	<u>15,7</u>	<u>15,6</u>	<u>13,3</u>	
F13/F18	12,0	24,3	<u>66,4</u>	<u>72,1</u>	<u>81,3</u>	<u>46,1</u>	<u>60,4</u>	<u>13,5</u>	<u>87,3</u>	<u>43,1</u>	<u>37,2</u>	<u>62,1</u>	<u>91,9</u>	<u>60,5</u>	<u>15,2</u>

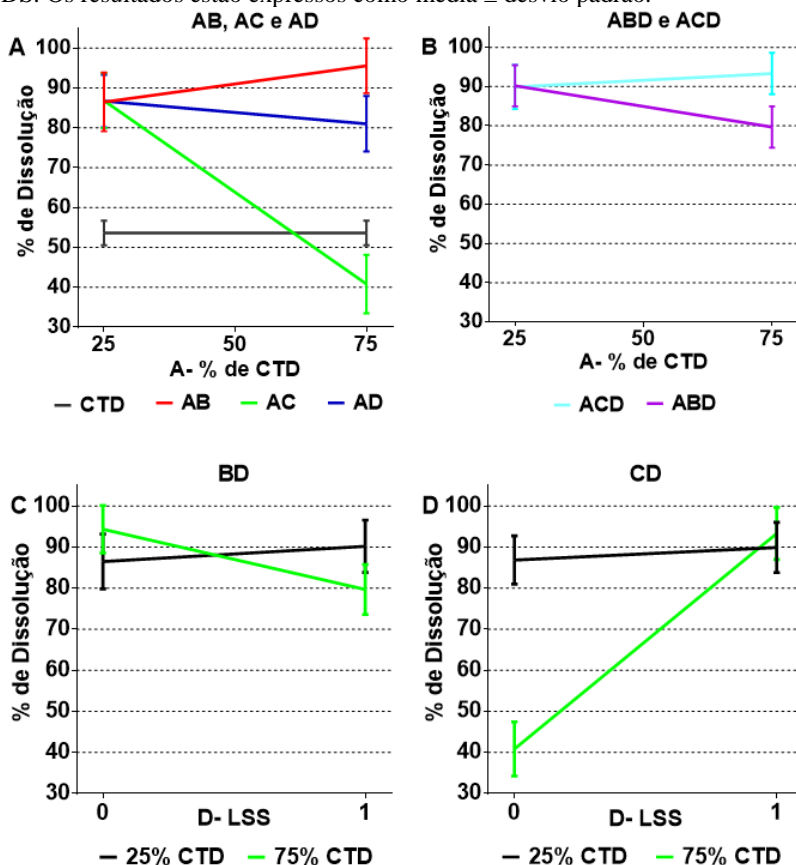
Com relação a ED, são estatisticamente iguais ($p < 0,05$) a F3/F8 somente as DS F4, F5, F9, F11 e F16, com ED entre $84,45 \pm 1,32 \%$ e $89,71 \pm 2,62 \%$. As DS F1 e F2/F15 apresentaram ED de $82,62 \pm 0,75 \%$ e $84,00 \pm 0,90 \%$, respectivamente, devido a uma dissolução levemente mais lenta nos minutos iniciais, sendo assim estatisticamente diferentes de F3/F8. As DS que apresentaram perfis semelhantes a F3/F8 tiveram composições variadas. O delineamento experimental foi então avaliado a fim de conhecer como a composição das DS influenciou na taxa de dissolução *in vitro* da CTD.

O modelo matemático desenhado para as respostas de avaliação do percentual de dissolução liberado em 90 min (D_{90}) foi estatisticamente relevante ($p < 0,0001$) e apresentou intercepto de 82,72. Todos os fatores primários (A- % CTD, B- ALG, C- SOL e D- LSS) foram estatisticamente relevantes ($p < 0,05$). Foram também relevantes estatisticamente as interações: AC, AD, BD, CD, ABD e ACD. A interação AB foi incluída no modelo devido à relevância estatística da interação ABD. A falta de ajuste não foi estatisticamente significativa, indicando que o modelo descreve adequadamente a relação funcional entre os fatores experimentais e a variável de resposta. Este modelo matemático apresentou coeficientes de correlação R^2 (0,9954) e R^2 ajustado (0,9871). A equação matemática (equação 9) que rege esse modelo em função dos termos codificados é:

$$D_{90} = 82,72 - 5,66 * A + 1,78 * B - 3,20 * C + 5,57 * D + 0,71 * A * B - 4,29 * A * C + 3,88 * A * D - 1,91 * A * B * D - 1,25 * B * D + 7,07 * C * D + 6,57 * A * C * D \quad (9)$$

As interações do modelo estão apresentadas Figura 12. Observa-se que todos os fatores exercem efeito significativo na alteração do % de dissolução. Todas as DS contendo 25 % de CTD (F2, F4, F5, F6, F9, F11, F13, F15 e F18) apresentaram o percentual de dissolução maior que 85 %, provavelmente devido a alta proporção de excipientes na formulação. Essa melhora na dissolução da CTD pode ser observada, por exemplo, na DS F9 que contém 25 % de CTD associada aos excipientes ALG, SOL e LSS que alcançou uma dissolução do fármaco de $93,3 \pm 1,18 \%$.

Figura 12 - Efeito das interações entre os fatores analisados na D_{90} referente às DS. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.



As interações das amostras contendo 75 % de CTD demonstraram que em dispersões binárias o polímero ALG é capaz de proporcionar um alto nível de dissolução do fármaco, mesmo em baixas proporções. Esse efeito é observado, por exemplo, nas DS F3/F8, contendo 25 % de ALG na formulação, nas quais obteve-se uma liberação da CTD de $94,39 \pm 2,64$ % em 90 min.

Através da interação AD é possível observar que quanto menor a proporção de CTD, e consequentemente maior a proporção de LSS, ocorre uma melhora na % de dissolução do fármaco. Os efeitos da interação BD, ALG-LSS, são estatisticamente significantes. Em DS

contendo 75 % de CTD, a taxa de dissolução do fármaco é maior nas amostras contendo somente ALG do que nas amostras que contém a incorporação de LSS.

Em dispersões binárias, o SOL proporciona uma melhora na dissolução quando a % de CTD é 25 %. Porém, esse surfactante não influencia positivamente quando a % de CTD é de 75 %, conforme observa-se na interação AC. Dessa forma, as DS F2/F15, que contém 25 % de CTD, apresentam dissolução de $86,86 \pm 0,46$ % enquanto que a DS F10 (75 % de CTD) apresenta dissolução de $40,82 \pm 0,75$ %.

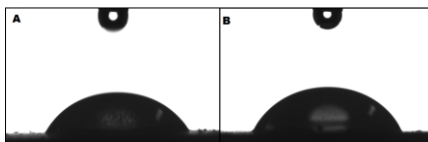
Através dos resultados obtidos pelo planejamento, observa-se que uma melhora na dissolução da CTD pode ser obtida com a incorporação concomitante de SOL e LSS em DS contendo 75 % de fármaco, como observado na interação ACD. A DS F16, com 75% de CTD associada aos surfactantes SOL-LSS, alcançou uma dissolução de $95,23 \pm 1,40$ % em 90 min.

Os ensaios de dissolução demonstraram que o polímero (ALG) e surfactantes (SOL e LSS) podem ser promissores no desenvolvimento de novas formulações comerciais.

4.3.3 Avaliação do ângulo de contato e molhabilidade

A molhabilidade é o primeiro passo para a dissolução de um sistema de liberação de fármaco por via oral (DAHLBERG et al., 2008), em alguns casos, considerada um dos fatores mais importantes neste aspecto (LU et al., 2014). Em se tratando de fármacos, a molhabilidade é normalmente analisada através do ângulo de contato com o solvente analisado, neste caso a água. os limites do ângulo de contato são zero grau, para molhabilidade total e 180 graus para ausência molhabilidade.

Figura 13 - Ângulo de contato referente a CTD matéria-prima (A) e a CTD amorfa obtida por *spray drying* (B).



Os ângulos de contato da CTD matéria-prima e CTD SD (Figura 13) encontrados foram $66,3 \pm 3,6^\circ$ e $64,0 \pm 3,9^\circ$, respectivamente. Não são observadas diferenças significativas entre os valores dessas amostras. A literatura relata que alterações do ângulo de contato com

líquidos podem ser visualizadas quando a morfologia e tamanho das partículas são modificados. Nesses casos, a possibilidade de difusão da água nos poros intra e interparticulares poderia comprometer a avaliação da molhabilidade por esta metodologia. Dessa forma, o uso desse método de avaliação da molhabilidade entre partículas de morfologia e tamanho semelhantes é confiável e reprodutível (NOWAK et al., 2013).

Tabela 6 - Ângulo de contato referente a CTD matéria-prima, CTD amorfa (CTD SD) e DS (DS). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.

DS	Ângulo de contato ($^{\circ}$)	DS	Ângulo de contato ($^{\circ}$)
CTD	66,3 \pm 3,6	CTD SD	64,0 \pm 3,9
F1	35,9 \pm 0,2	F10	68,9 \pm 3,6
F2	73,2 \pm 2,0	F11	77,4 \pm 2,0
F3	73,1 \pm 4,5	F12	58,1 \pm 2,6
F4	-	F13	-
F5	53,5 \pm 2,6	F14	68,9 \pm 1,3
F6	74,3 \pm 4,7	F15	73,9 \pm 4,3
F7	77,3 \pm 2,6	F16	67,6 \pm 2,2
F8	71,5 \pm 3,3	F17	78,2 \pm 1,6
F9	60,3 \pm 3,1	F18	-

Os ângulos de contato para as DS estão demonstrados na Tabela 6. Relata-se que não foi possível determinar ângulos de contato para as DS F4, F13 e F18, devido à impossibilidade de confeccionar pastilhas através da compressão dos pós. Este fato pode estar relacionado à presença de altas proporções de LSS nessas DS. O LSS parece possuir propriedades mecânicas muito diferentes de outros excipientes e por diversas razões, às vezes, a incorporação deste em formulações farmacêuticas diminui a tabletabilidade de tais formulações (ETZLER et al., 2012).

Os valores obtidos para a resposta de ângulo de contato foram analisados utilizando o planejamento experimental. A ANOVA foi calculada para verificar a relevância estatística de cada fator, bem como suas interações, em relação à resposta. O modelo matemático desenhado

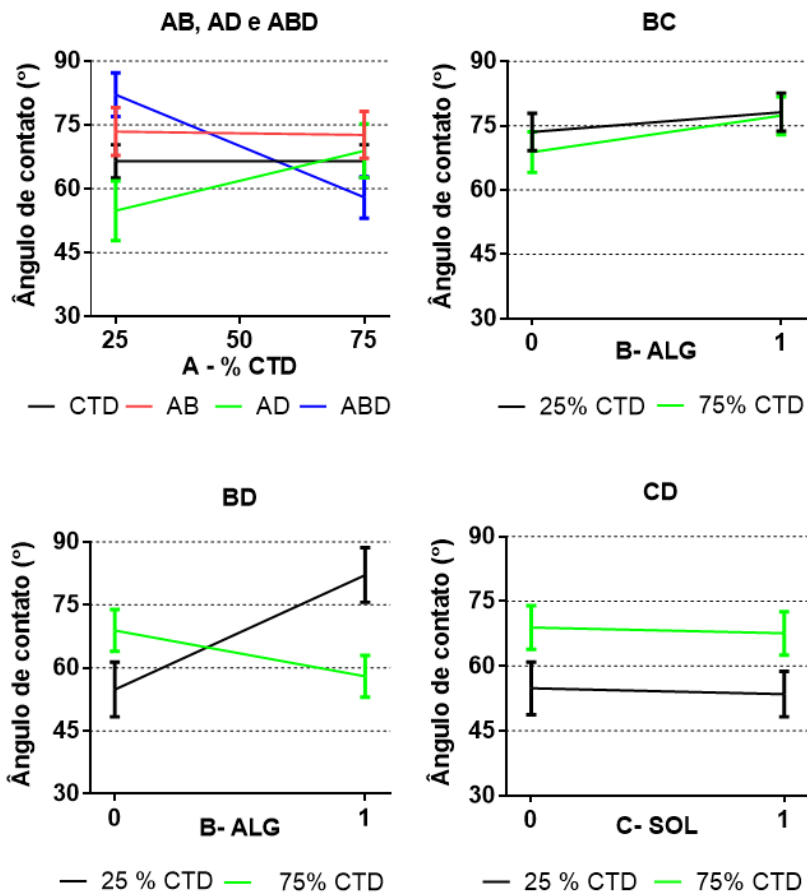
para as respostas de avaliação do ângulo de contato foi estatisticamente relevante ($p < 0,0001$) e apresentou intercepto de 63,57. Dentre os fatores primários analisados, somente os fatores A-CTD, B-ALG e D-LSS foram estatisticamente relevantes ($p < 0,05$). O fator primário C-SOL foi incluído no modelo devido a relevância estatística das interações secundárias. As interações secundárias relevantes foram BC, BD, CD e ABD. A falta de ajuste não foi estatisticamente significativa. O modelo matemático apresentou excelentes coeficientes de correlação R^2 (0,9980) e R^2 ajustado (0,9929). A equação matemática (equação 10) que rege esse modelo, em função dos termos codificados, é:

$$\begin{aligned} \text{Ângulo de Contato} = & 63,57 - 1,98 * A + 3,71 * B + 0,83 * C \\ & - 3,38 * D - 4,32 * A * B - 0,60 * A * D - 5,19 * B * C \\ & - 4,76 * B * D - 6,70 * C * D - 5,30 * A * B * D \end{aligned} \quad (10)$$

A partir da resposta das interações do modelo apresentadas Figura 14, observa-se que o fator A exerce efeito importante na alteração do ângulo de contato, pois um aumento no % de CTD resulta também na diminuição da % dos excipientes. Através das interações AB sugere-se que, em DS binárias, a presença do polímero ALG parece não melhorar a molhabilidade da DS, aumentando o ângulo de contato com a água. Já a presença de LSS, em DS binárias, proporciona uma melhora significativa na molhabilidade. Este efeito é dependente da proporção dos componentes, conforme visualizado na interação AD, quanto menor a % de CTD na dispersão maior é diminuição do ângulo de contato.

O resultado da interação ABD demonstra que quando são incorporados concomitantemente ALG e LSS nas DS, a variação na % dessa mistura pode influenciar de diferentes maneiras. Em DS com 75 % de fármaco, como a DS F12 ($58,1 \pm 2,6^\circ$), há uma tendência de diminuição do ângulo de contato, já em amostras contendo 25 % de CTD essa tendência não é observada. Essa resposta de diminuição do ângulo de contato em DS ternárias pode ser devido a incorporação de LSS. Conforme já relatado pela literatura, esse surfactante hidrofílico, mesmo quando incorporado em pequena quantidade parece diminuir o significativamente o ângulo de contato de DS (LU et al., 2014). No entanto, quando a % de fármaco é baixa, ou seja uma alta % de ALG e LSS na DS, a influência do ALG parece sobrepor-se à tendência de diminuição do ângulo de contato causada pelo LSS.

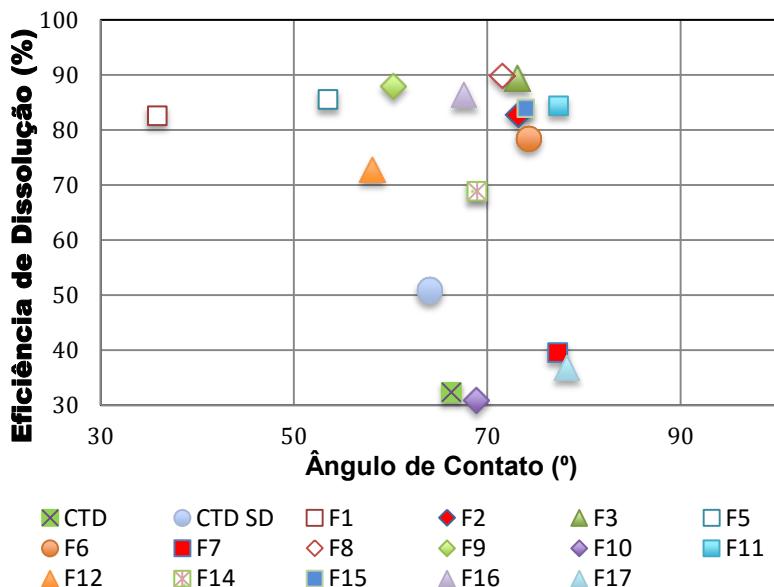
Figura 14 - Efeito das interações entre ângulo de contato referente as DS. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.



A interação BC demonstra que a incorporação concomitante de ALG e SOL em DS ocasiona um aumento no ângulo de contato com a água. Esse aumento é mais acentuado para as DS contendo 25 % de CTD. No entanto, a incorporação de LSS concomitantemente ao SOL, interação CD, proporciona melhoraria na molhabilidade com a diminuição da proporção de CTD, como observado na DS F5 ($53,5 \pm 2,6^\circ$). A DS F1, composta por 75 % de CTD com os excipientes ALG, SOL e LSS apresentou ângulo de contato de $35,9 \pm 0,2^\circ$, sendo a

formulação com maior redução no ângulo de contato com a água, possuindo assim a melhor molhabilidade dentre as DS desenvolvidas.

Figura 15 - Relação entre eficiência de dissolução *versus* ângulo de contato das DS.



Artigos recentes relatam que pode haver uma correlação direta entre a taxa de molhabilidade e dissolução de DS. LU e colaboradores (2014) observaram uma tendência de aumento da eficiência de dissolução com uma diminuição do ângulo de contato em DS de Sinvastatina. Nessas amostras, foi possível determinar um ângulo de contato crítico de molhabilidade, a partir do qual ocorria uma transição no comportamento da dissolução do fármaco. A fim de verificar se existia um ângulo de contato crítico nas DS de CTD plotou-se um gráfico da ED *versus* ângulo de contato (Figura 15). Diferentemente do resultado obtido por Lu e colaboradores, neste trabalho, não se observou uma tendência de aumento da ED com a diminuição do ângulo de contato da CTD. Algumas DS com o mesmo ângulo de contato (77°) apresentaram ED bastante diferentes entre si, 39,6 % (F7) e 84,4 % (F11).

A molhabilidade das DS é determinada pela sua composição química da superfície. Relata-se, porém que a superfície de um pó seco

por *spray drying* é dominada pelo material menos solúvel devido à sua adsorção à interface ar/líquido antes que este se transforme em uma partícula seca (DAHLBERG et al., 2008). Dessa forma, mesmo com uma dispensabilidade máxima do fármaco, é possível que não haja uma melhora na molhabilidade devido ao acúmulo de fármaco na superfície das DS (LU et al., 2014). Atwood (2008) relata que o umedecimento de um pó quando este é posto em contato com água é dificultado quando o ângulo de contato é maior do que 90°. Quando a molhabilidade parece não ser um fator limitante da dissolução, como neste caso, sugere-se que outros mecanismos, como redução da cristalinidade e aumento da área superficial, possam estar envolvidos na alteração do comportamento de dissolução da CTD nas DS.

4.3.4 Caracterização por técnicas do estado sólido

A apresentação da caracterização do estado sólido foi dividida em 2 grupos de acordo com as análises de DRXP: DS semicristalinas (DSS) e DSA (DSA).

4.3.4.1 Dispersões sólidas semicristalinas (DSS)

4.3.4.1.1 Difração de raios X de pó

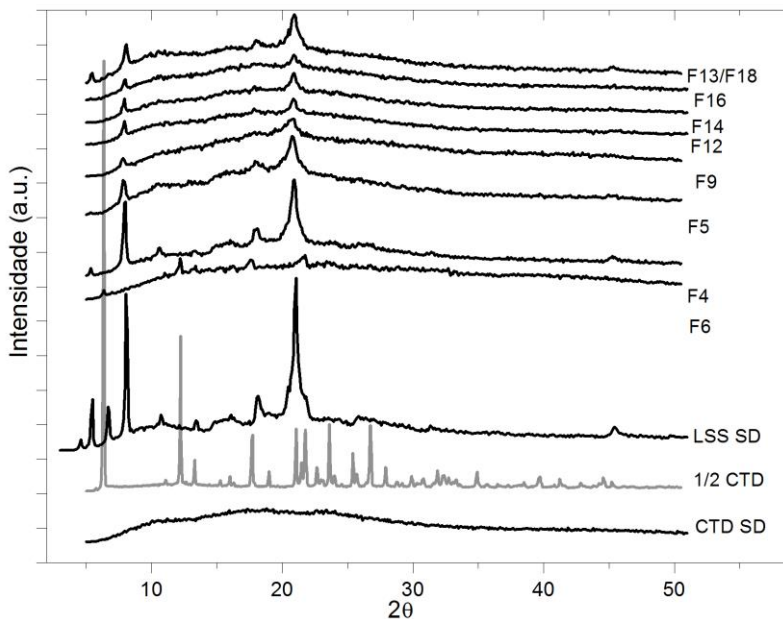
As análise de DRXP da amostra de CTD, matéria-prima utilizada, revelam que esta exibe alto grau de cristalinidade (Figura 16). As reflexões mais intensas em 2θ estão evidentes nas posições 6.35, 11.08, 12.21, 13.25, 17.65, 18.95, 21.05, 21.73, 22.61, 23.61, 25.39, 26.72, 27.85 e 29.89 confirmando a forma polimórfica I conforme relato da literatura (BONFILIO et al., 2014).

Os excipientes utilizados ALG e SOL apresentam características amorfas conforme já descrito na literatura (BORBA et al., 2016, HA et al., 2014), já o LSS possui estrutura cristalina (SMITH et al., 2000).

Uma amostra de LSS foi submetida as mesmas condições de solubilização e secagem por *spray drying*, denominada LSS SD, a fim de comparar com as reflexões obtidas para as DS que não apresentaram total amorfização. O difratograma referente ao LSS SD apresenta reflexões em 2θ nas posições 4.58, 5.47, 6.66, 8.05, 10.73, 13.40, 16.08, 18.16, 21.04 e 45.43. Essa amostra apresentou diferenças com relação ao difratograma da matéria-prima utilizada (Apêndice A), sugerindo alterações no estado cristalino do LSS SD. Essa alteração pode ter ocorrido devido a formação de hidratos, visto que diferentes hidratos

foram relatados utilizando-se como solvente etanol/água (KEKICHEFF; GRABIELLE-MADELMONT; OLLIVON, 1989; SPERLINE, 1997).

Figura 16 - Difração de raios X de pó da CTD, CTD SD, LSS SD e DSS.



Os difratogramas das DSS mostradas na Figura 16 apresentam redução na intensidade das reflexões como consequência da diminuição na cristalinidade. Essas reflexões estão sumarizadas na Tabela 7 e discutidas posteriormente juntamente com outras técnicas de caracterização do estado sólido.

O difratograma da DSS F6 exhibe traços de cristalinidade característicos da CTD, polimorfo I, possivelmente devido a recristalização do fármaco que pode ter ocorrido durante o processo de *spray drying*. A alta viscosidade do polímero ALG exigiu uma diluição maior da solução dessa amostra, prolongando o tempo de secagem e propiciando eventual precipitação. Embora a incorporação de surfactantes em DS contendo ALG não tenha expressado melhora na dissolução, essa se faz necessária para reduzir a viscosidade e melhorar as condições de trabalho de amostras contendo alta porcentagem de ALG (75 %).

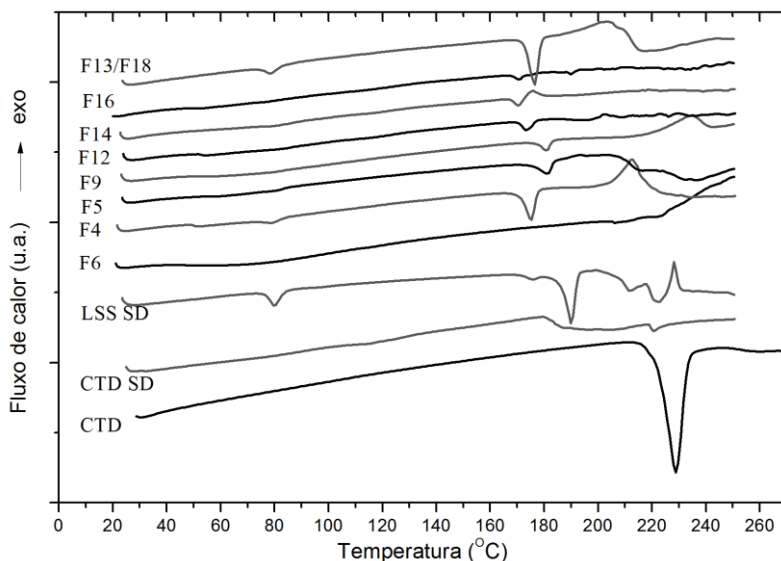
Tabela 7 - Reflexões de difração de raios X de pó (posição 2θ) a partir dos difratogramas das DSS.

F4 (2θ)	F5 (2θ)	F6 (2θ)	F9 (2θ)	F12 (2θ)	F14 (2θ)	F16 (2θ)	F13 (2θ)
5.36	5.36	-	-	-	-	-	5.45
-	-	6.36	-	-	-	-	-
8.00	7.82	-	7.82	7.91	7.91	7.91	8.09
10.64	-	-	-	-	-	-	-
-	-	12.19	-	-	-	-	-
-	-	13.37	-	-	-	-	-
-	-	17.56	-	-	-	-	-
18.20	17.92	-	-	-	-	-	18.01
20.93	20.75	-	20.93	20.84	20.84	20.84	20.93
-	-	21.75	-	-	-	-	-
45.24	-	-	-	-	-	-	45.24

4.3.4.1.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Através da análise dos termogramas pode-se visualizar que a CTD (Figura 17), matéria-prima utilizada, apresenta endoterma correspondente a fusão no intervalo entre 221.09 e 234.85 °C ($T_{\text{peak}} = 228.80$ °C e $\Delta H_{\text{fusão}} = -198,35 \text{ J g}^{-1}$), de acordo com o intervalo descrito na literatura (USP 30, 2007, SINGER et al., 1985). Já no termograma da CTD SD observa-se uma discreta endoterma de fusão em 220,52 °C, com $\Delta H_{\text{fusão}} = -5,5 \text{ J g}^{-1}$. Esse dado sugere que pode ter ocorrido traços de recristalização dessa amostra, após o processo de secagem, visto que não são observadas reflexões cristalinas no difratograma de DRXP dessa amostra. A presença de solvente residual, comumente presente em amostras obtidas por *spray drying*, é considerada um fator crítico na estabilidade das DS. Mesmo que parte do solvente tenha sido removido, resíduos ainda poderiam estar presentes ocorrendo a plastificação (SINGH; VAN DER MOOTER, 2016). O deslocamento na fusão, neste caso uma variação de 8,28 °C, pode ser oriundo da presença de impurezas ou devido a diminuição do tamanho de partícula. Impurezas foram detectadas em testes de análise de pureza da matéria-prima (dados não apresentados). Devido à maior área superficial específica, pequenas partículas podem requerer uma menor energia de ativação necessária para a transição. Com um nível de energia mais elevado essas partículas podem deslocar a fusão a temperaturas menores (BUNJES; KOCH; WESTESEN, 2000).

Figura 17 - Análises de DSC da CTD, CTD SD, LSS SD, F6, F4, F5, F9, F12, F14, F16 e F13/F18, razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.



O LSS SD apresenta endoterma em $79,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, $175,59\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $189,90\text{ }^{\circ}\text{C}$. As DSS F4, F5, F9, F10 F12, F14, F13/F18 entre $170,57$ e $190,56\text{ }^{\circ}\text{C}$. Através da avaliação das análises de DRXP e DSC das DSS F4, F5, F9, F12, F14, F16, F13/18 sugere-se que as reflexões apresentadas nos DRXP bem como as endotermas presentes no DSC destas DS podem ser correspondentes ao LSS ou devido a recristalização influenciada pela sua presença, visto que todas essas amostras contêm LSS na suas composições.

Já a endoterma presente na DSS F6 entre $200,33$ e $221,84\text{ }^{\circ}\text{C}$, bem como as reflexões de DRXP desta amostra, parecem ser oriundos da presença de pequena quantidade de CTD cristalina nessa amostra.

4.3.4.1.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

As análises dos espectros FTIR foram interpretadas correlacionando os espectros dos materiais de partida (Figura 18) tanto na sua forma amorfa como cristalina, com os espectros das DS obtidas. A CTD SD, fármaco amorfo, foi obtida por *spray drying*. O espectro cristalino da CTD confirma a identidade do fármaco conforme já relatado pela literatura (BONFILIO et al., 2014; SANTOS, 2014). As

bandas vibracionais características para a CTD apresentam em: 3360 cm^{-1} (estiramento simétrico NH), 3251 cm^{-1} (deformação axial OH), 1685 cm^{-1} (estiramento C=O da amida), 1550 cm^{-1} (deformação angular de NH da amida), 1345 cm^{-1} e 1169 cm^{-1} (deformação axial assimétrica e simétrica de SO_2 da sulfonamida), 1038 cm^{-1} (deformação axial CCl) e 699 cm^{-1} (deformação angular OH fora do plano). A análise do espectro da CTD SD demonstra modificações em relação ao espectro da CTD cristalina. Na Figura 18 podem ser visualizados alargamentos de diversas bandas, como em 1689 cm^{-1} e 1038 cm^{-1} , e o alargamento e sobreposição das bandas de OH e NH em 3262 cm^{-1} . Ainda, é possível visualizar os deslocamentos e alargamentos das bandas referentes a sulfonamida de 1345 cm^{-1} e 1169 cm^{-1} para 1336 cm^{-1} e 1158 cm^{-1} , respectivamente. Mudanças nas bandas referentes a esses grupamentos podem ser esperadas visto que esses estão envolvidos em interações de intermoleculares no arranjo cristalino, conforme relatado por Martins e colaboradores (2009). Alargamentos e sobreposição de outras bandas foram também observados, como nas bandas de 1472 cm^{-1} e 1463 cm^{-1} para 1465 cm^{-1} , de 967 cm^{-1} e 950 cm^{-1} para 952 cm^{-1} .

O alargamento das bandas O-H e NH podem ser devido a ocorrência de diferentes ambientes químicos e o estabelecimento de novas interações intramoleculares favorecidas pela alta mobilidade e perda da ordem em materiais amorfos (MARTÍNEZ et al., 2014).

O ALG apresenta suas bandas características referentes ao grupamento carboxílico salificado em 1593 cm^{-1} e 1407 cm^{-1} , sendo a banda mais intensa proveniente da deformação axial assimétrica da ligação COO^- , enquanto a banda mais fraca está relacionada a deformação axial simétrica da ligação COO^- . Em 3233 cm^{-1} , 2926 cm^{-1} e 1027 cm^{-1} apresenta bandas referente aos estiramento OH, CH e CO, respectivamente (FAN et al., 2006; PAPAGIORGIO et al., 2006). O espectro do SOL apresenta as principais bandas em 3480 cm^{-1} (OH), 2882 cm^{-1} (CH aromático), 1733 cm^{-1} e 1630 cm^{-1} (estiramento do éster referente aos monômeros vinil acetato e vinil caprolactama) e 1466 cm^{-1} (estiramento COC; LIN et al., 2015, SINGH et al., 2016). Da mesma forma, o espectro do LSS apresenta-se em conformidade com a literatura apresentado suas bandas características em 2918 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} (estiramentos CH_2 simétrico e assimétrico), 1248 cm^{-1} , 1216 cm^{-1} e 1081 cm^{-1} (estiramento simétricos e assimétrico de SO_2 ; ELSAYED et al., 2011, PROSSER, FRANCES, 2002, SCHEUING, WEERS, 1990).

Figura 18 - Espectroscopia no infravermelho dos materiais de partida utilizados na produção das DS e CTD SD.

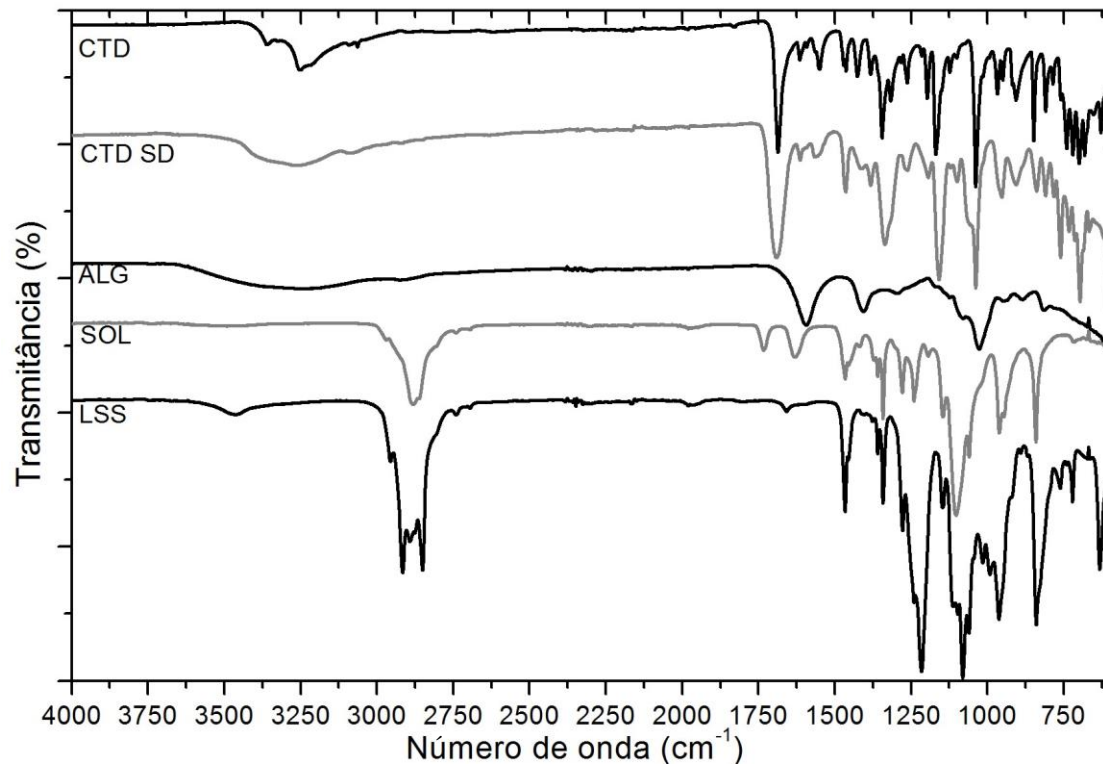
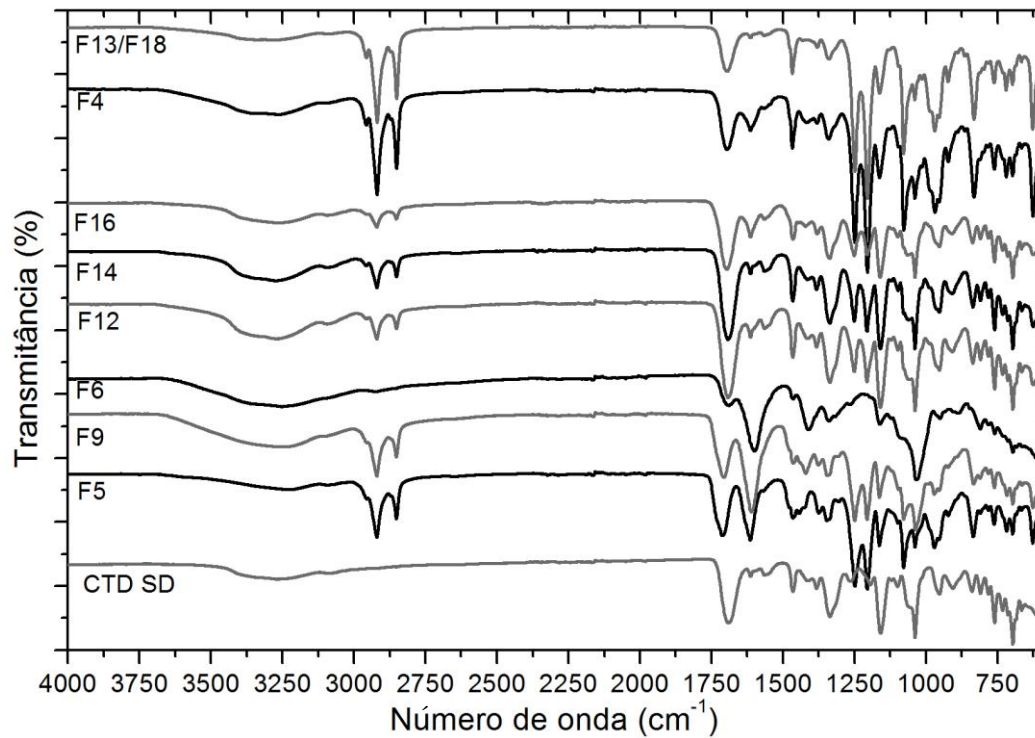


Figura 19 - Espectroscopia no infravermelho dos materiais de partida utilizados na produção das DS e CTD SD.



Os espectros representados na Figura 19 revelam que nas DSS F4, F6, F12, F14, F16, F13/F18 há apenas sobreposição das bandas referentes ao fármaco amorfo e excipientes, indicando a inexistência de interações químicas entre os compostos. A avaliação de DSS com proporções diferentes contendo LSS, como a F13/F18 e F14, indica que possivelmente há a formação de interações entre CTD-LSS.

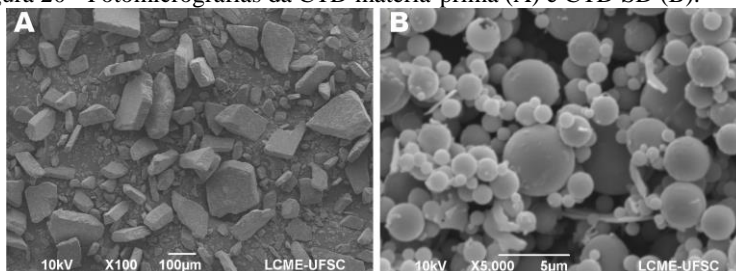
A DSS F5, a qual contém em sua formulação 25 % de CTD associada a SOL e LSS, apresenta deslocamento das bandas referentes à carbonila para 1712 cm^{-1} e aos grupamentos OH e NH para 3232 cm^{-1} . A presença de deslocamentos sugere a formação de interações de hidrogênio entre grupamentos carbonila (aceptor) e OH/NH (doador) dos componentes dessa formulação. Na DSS F9, a qual é composta por 25 % CTD, ALG, SOL e LSS, deslocamentos semelhantes são observados para as bandas correspondente aos grupamentos OH/NH e carbonila, para 3245 cm^{-1} e 1707 cm^{-1} , respectivamente. Esses deslocamentos indicam a ocorrência de ligações de hidrogênio entre a CTD com os componentes da DSS F9.

A presença de ligações de hidrogênio entre fármaco e excipientes é amplamente descrita na literatura como um aspecto positivo na estabilização da formulação. Essas ligações podem aumentar a energia de ativação para a separação de fase e cristalização (JANSSENS, VAN DER MOOTER, 2009).

4.3.4.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

De acordo com a Figura 20A é possível observar que a CTD cristalina apresenta-se na forma de blocos laminares semelhantes aos reportados pela literatura (MARTINS et al., 2009). A secagem por *spray drying* produziu modificações na morfologia da CTD SD (Figura 20B). Nas quais observa-se que as partículas produzidas possuem formato esférico, com superfície lisa, aparentemente ocas e com redução significativa do tamanho de partícula. Essas alterações morfológicas das partículas secas por *spray drying* são frequentemente relatadas na literatura (VEHRING, 2008).

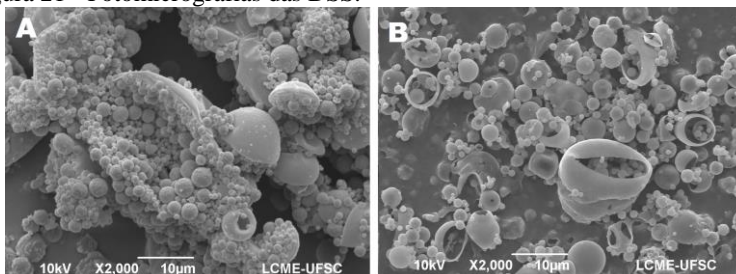
Figura 20 - Fotomicrografias da CTD matéria-prima (A) e CTD SD (B).



As modificações na morfologia das DS da CTD parecem sofrer a influência da composição e percentual de fármaco presente. A DSS F6 (Figura 21A) contendo alto percentual de ALG mantém a morfologia esférica, no entanto as partículas aparentam estar altamente agregadas. Por outro lado, DSS contendo LSS (Figura 21B) apresentam morfologia esférica com partículas de superfície lisa e aparente cisão parcial das partículas maiores. Essas DSS são F4, F5, F9, F12, F13/18, F14 e F16. Na secagem por *spray drying*, a formação das partículas é influenciada por uma pressão interna criada quando gotículas são secas a temperaturas próximas ou acima do ponto de ebulição de um dos componentes, como o caso do LSS. A pressão de vapor no interior dessas partículas é maior que na superfície externa. Dessa forma, dependendo das propriedades das partículas, essas podem inflar ou quebrar como resultado do gradiente de pressão (GASPAR et al., 2014).

Contudo, as pequenas diferenças morfológicas observadas entre as DSS não parecem influenciar no percentual de dissolução da CTD proporcionado por cada DS.

Figura 21 - Fotomicrografias das DSS.

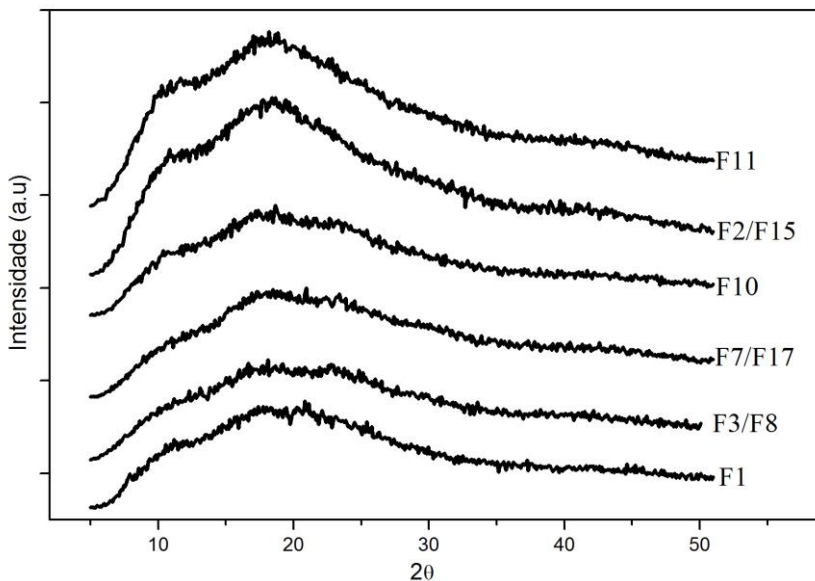


4.3.4.2 Dispersões sólidas amorfas (DSA)

4.3.4.2.1 Difração de raios X de pó (DRXP)

A avaliação dos difratogramas presentes na Figura 22 mostra a ausência de reflexões agudas no padrão de DRXP das DSA F1, F3/F8, F7/F17, F2/F15, F10 e a F11. Essas características observadas nos difratogramas indicam que a secagem por *spray drying* foi eficaz na obtenção de formulações totalmente amorfas.

Figura 22 - Difração de raios X de pó da CTD SD, F1, F3/F8, F7/F17, F10, F2/F15 e F11.

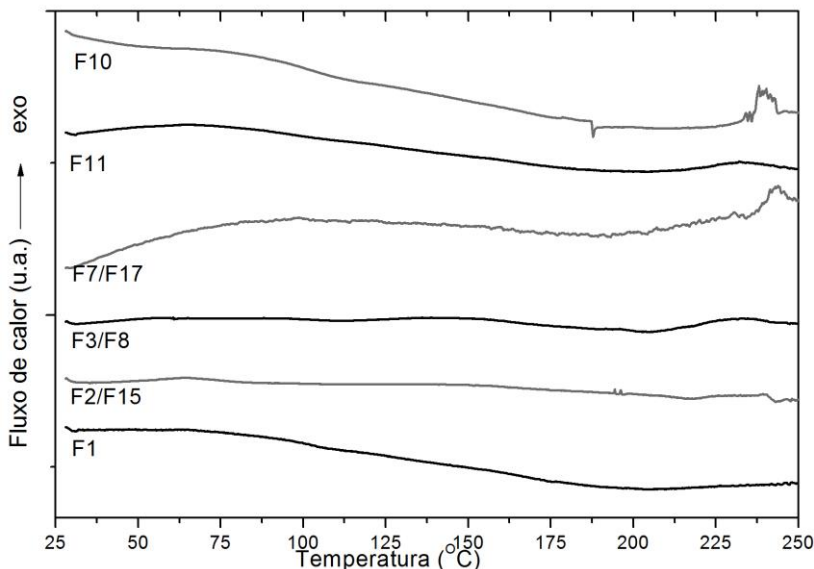


4.3.4.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os termogramas das amostras F1, F2/F15, F3/F8, F7/F17 e F11 revelam a ausência de fusão para essas amostras (Figura 23), confirmando a natureza amorfa destas conforme observado na análise de DRXP. Já a DSA F10 apresenta uma endoterma em 187,71 °C, $\Delta H_{\text{fusão}} = -1,46 \text{ J g}^{-1}$. Traços de impurezas ou recristalização em outra forma polimórfica podem estar ocorrendo nesta amostra, visto que não são visíveis reflexões na sua DRXP. Observa-se ainda que alguns desses

sistemas amorfos apresentam exotermas, sugerindo que quando expostos a altas temperaturas esses começam a recrystalizar.

Figura 23 - Análises de DSC das DSA F1, F3/F8, F7/F17, F10, F2/F15 e F11, razão de aquecimento de $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

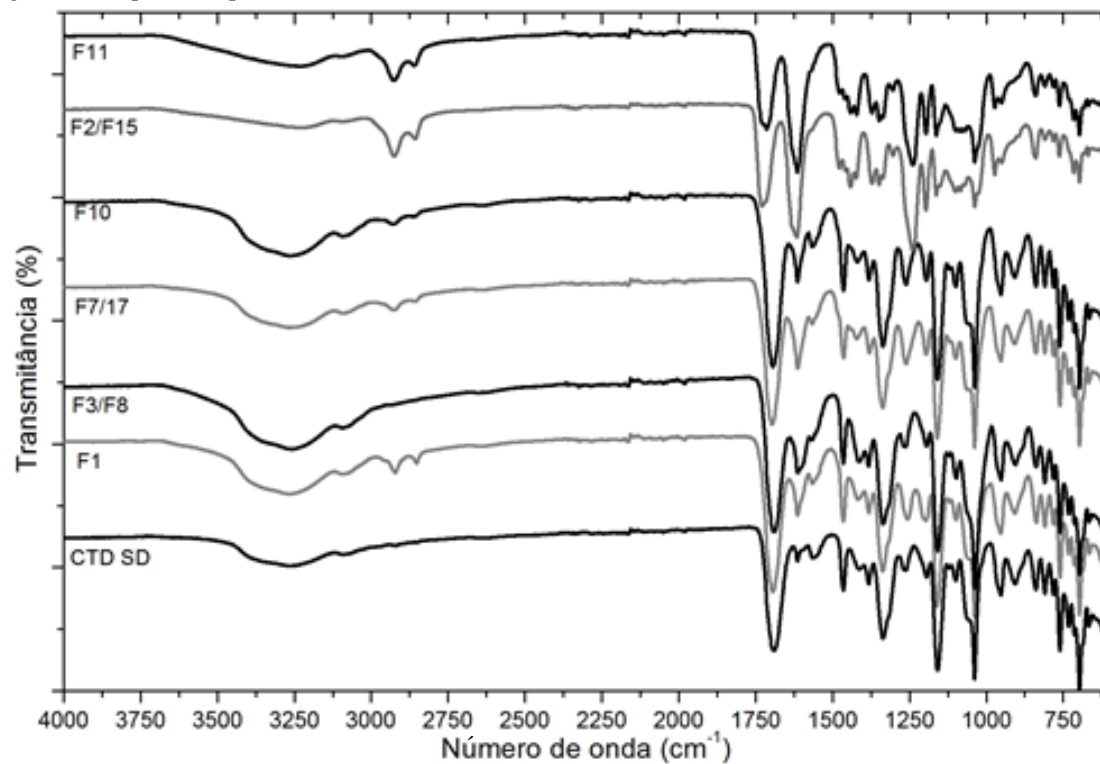


4.3.4.2.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros FTIR das DSA podem ser visualizados na Figura 24. No intuito de verificar mais claramente a ocorrência de interações intermoleculares entre a CTD, polímero e surfactantes, calculou-se espectros teóricos a partir dos espectros da CTD amorfa, SOL, ALG e LSS. Nesses cálculos, foram repetidas as proporções dos excipientes em cada formulação. Os espectros calculados foram comparados aos experimentais, de modo que deslocamentos podem significar a ocorrência de interações químicas entre os compostos das formulações. Na Tabela 8 estão expostos os números de ondas dos grupamentos OH/NH e carbonila, uma vez que esses grupamentos tem potencial para formar ligações de hidrogênio.

Através da avaliação da Figura 24 e Tabela 8 é possível observar que as DSA F1, F3/F8, F7/17 e F10 apresentam apenas sobreposição das bandas referentes a CTD aos polímero e surfactantes utilizados, sugerindo a inexistência de interações químicas entre os componentes.

Figura 24 - Espectroscopia no infravermelho das DSA.



Nas DSA F2/F15 (25 % CTD, 75 % SOL) e F11 (25 % CTD , 75 % ALG-LSS), deslocamentos pronunciados são observados nas regiões correspondentes aos grupamentos OH/NH e carbonila. Os deslocamentos visualizados aconteceram em DSS e DSA contendo menores proporções de fármaco e altas proporções de surfactantes. Em todas essas dispersões observou-se a presença do surfactante SOL, sendo este conhecido por promover um aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água e por sua capacidade de formar ligações de hidrogênio, promovendo assim a estabilização de sólidos amorfos (TERIFE et al., 2012; YU et al., 2015 ZHANG et al., 2012).

Tabela 8 - Dados referentes aos espectros FTIR experimentais e calculados referentes as DSA.

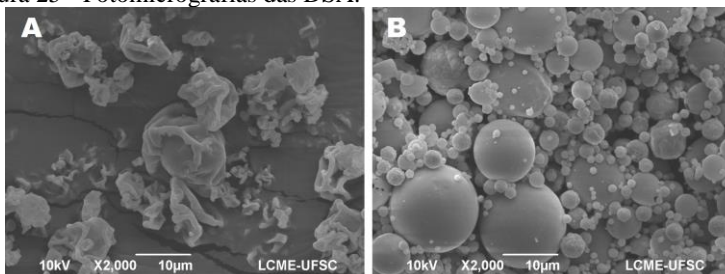
Amostra	Banda OH e NH (cm ⁻¹)		Banda C=O amida (cm ⁻¹)	
	Experimental	Calculado	Experimental	Calculado
F1	3265	3264	1693	1690
F2/F15	3213	3268	1716	1694
F3/F8	3262	3263	1691	1690
F7/17	3262	3261	1698	1694
F10	3262	3265	1694	1694
F11	3227	3268	1714	1696

4.3.4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As DSA F2/F15 e F11, com alto percentual de SOL, apresentaram micropartículas com ondulações na superfície, de aspecto rugoso (Figura 25A). Esse resultado é semelhante ao encontrado por HA e colaboradores (2014) em DS contendo SOL e atorvastatina em proporções semelhantes.

No entanto, essas modificações na morfologia só foram observadas em DSA com baixo percentual de CTD na formulação. As DSA binárias com alto percentual de CTD nas formulações ou com associação de carreadores apresentam morfologia semelhante a CTD SD. Essas DSA, F1, F3/F8, F7/F17 e F10, apresentaram partículas com morfologia esférica, de superfície lisa, com distribuição heterogênea de tamanho das partículas. Houve também aparente redução no tamanho das partículas quando comparadas a CTD matéria-prima, conforme visualizado na Figura 25B.

Figura 25 - Fotomicrografias das DSA.



Contudo, como já observado nas DSS, as pequenas diferenças morfológicas observadas entre as DSA não pareceram influenciar no percentual de dissolução da CTD.

Através das análises de caracterização do estado sólido, DRXP, DSC e FTIR, sugere-se que, independente da amorfização parcial ou total das DS, o processo de secagem por *spray drying* parece amorfizar o fármaco CTD. Neste trabalho observou-se um aumento de 65,99 % na eficiência de dissolução da CTD amorfa em relação à CTD cristalina. As mudanças no estado sólido de fármacos podem facilitar separação média entre as moléculas, reduzir as forças de atração intermoleculares em comparação ao estado cristalino, podendo resultar em consequente aumento na dissolução em meio aquoso (BELLATONE, 2014).

No entanto, essa amorfização do fármaco não proporcionou uma dissolução total da CTD. Fato este que justificou a incorporação de polímeros e/ou surfactantes nas formulações. O polímero ALG e os surfactantes SOL e LSS influenciaram de diferentes maneiras tanto na dissolução do fármaco como nas mudanças no estado sólido. Entretanto, quando incorporados em DS binárias, os três excipientes foram capazes de proporcionar aumento na eficiência de dissolução acima de 150 % frente a CTD cristalina.

A fim de conhecer melhor o comportamento desses sistemas desenvolvidos frente a diferentes condições de estresse, como umidade e temperatura, fez-se necessário uso de uma ferramenta para escolha de um número menor de DS devido impossibilidade de se avaliar um número elevado de formulações. Para tal, utilizou-se a ferramenta de otimização do delineamento experimental chamada desejabilidade. Nesta ferramenta é possível atribuir importâncias e pesos para cada resposta, enfatizando umas em detrimento de outras. Dessa forma, o

processo de otimização pode ser realizado buscando satisfazer todos os requerimentos da forma mais adequada possível.

Tabela 9 - Nível de desejabilidade das DS buscando maximizar a quantidade de CTD nestas e maximizar a taxa de dissolução em 90 min. Atribui-se peso = 1 e importância = 3 para todos os fatores e respostas analisados.

Desejabilidade	% CTD	ALG	SOL	LSS	D ₉₀	ED ₉₀	Nº DS
0,993	75	1	0	0	94,39	89,71	F3/F8
0,957	75	0	1	1	93,33	84,50	F16
0,949	75	1	1	1	91,99	84,55	F1

Neste trabalho, considerou-se como um fator importante maximizar o % de dissolução do fármaco (D₉₀), bem como sua eficiência de dissolução (ED₉₀), com um mínimo de excipientes, ou seja maior % de CTD na DS. Atribui-se os valores de importância e peso iguais para todos fatores e respostas avaliados. Quanto mais próximo de 1,0 for esse índice de desejabilidade, mais adequadas são as condições encontradas em relação às condições impostas. Os resultados obtidos com desejabilidade acima de 0,9 estão apresentados na Tabela 9. Três DS obtiveram índice de desejabilidade acima de 0,9, estas foram: F3/F8, F16 e F1. Essas dispersões foram então selecionadas para a avaliação da estabilidade dessas formulações, conforme protocolo exposto no capítulo IV.

4.4 CONCLUSÃO

A secagem por *spray drying* possibilitou a obtenção de sistemas amorfos com redução do tamanho de partícula do fármaco. Embora a amorfização do fármaco promova o aumento na taxa de dissolução, a incorporação de polímero ou surfactantes demonstrou melhores resultados. O delineamento experimental mostrou-se de extrema importância na avaliação da influência da presença ou ausência dos carreadores na DS, da proporção fármaco excipiente, bem como as interações geradas por estes fatores. Os modelos matemáticos obtidos foram significativos para a avaliação da influencia destes fatores na % de dissolução do fármaco e ângulo de contato/molhabilidade.

DSA com o carreador ALG foram obtidas com sucesso, em diferentes proporções. É importante realçar que este polímero foi capaz de proporcionar um dos níveis mais altos de dissolução do fármaco em DS binárias com apenas 25 % de ALG na formulação. Já o surfactante

SOL apresentou resultados promissores na dissolução da CTD em DSA contendo 75 % de SOL. No entanto, esse surfactante não proporcionou melhora significativa na dissolução de DS com proporções menores de SOL. Diferente dos demais excipientes avaliados, o SOL quando em altas proporções parece estabelecer ligações de hidrogênio entre fármaco-excipiente, resultado este que pode influenciar positivamente na estabilização de sólidos amorfos. Bons resultados na melhoria de dissolução também foram evidenciados em DS binárias contendo LSS. No entanto a presença deste parece influenciar no processo de amorfização total da DS, sendo que várias DS contendo LSS apresentaram-se parcialmente cristalinas.

Associações ternárias e quaternárias envolvendo os 3 excipientes também foram capazes de proporcionar melhorias significativas na dissolução da CTD, dentre estas destacam-se a F16 (ternária SOL-LSS), F1 e F9 (quaternária- ALG, SOL, LSS). Essas três dispersões proporcionaram uma dissolução do fármaco acima de 90 % em 90 min. A combinação do carreador polimérico e com os dois surfactantes, em uma DSA contendo 75 % de CTD (F1), culminou em uma melhora significativa na molhabilidade.

Dentre as DS consideradas promissoras para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, F1, F3/F8 e F16 foram selecionadas para a avaliação de estabilidade frente a diferentes condições de estresse. Os resultados estão descritos no capítulo a seguir.

Capítulo IV

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DESENVOLVIDAS

5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DESENVOLVIDAS

5.1 INTRODUÇÃO

Os sólidos amorfos são geralmente mais solúveis e se dissolvem mais rapidamente do que os seus homólogos cristalinos. A ausência de ordem tridimensional de longo alcance em DSA, frequentemente, proporciona elevada solubilidade a estes sistemas (KOU; ZHOU, 2014; WARREN et al., 2010).

Apesar destas vantagens, as DS demonstram muitas vezes baixa estabilidade química e física, criando assim desafios relacionados ao desenvolvimento de formas farmacêuticas comerciais (KOU; ZHOU, 2014). Os polímeros exercem importante papel em DSA, tanto no aumento da taxa dissolução, inibição de precipitação do fármaco quanto na estabilização destes sistemas amorfos (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009). Outros aditivos, como surfactantes são frequentemente incorporados em sistemas amorfos fármaco-polímero no intuito de melhorar a dissolução de fármacos, reduzir a viscosidade e melhorar as condições de trabalho desses sistemas. Por um lado, a capacidade de solubilização e plastificação de surfactantes possui implicações positivas sobre a estabilidade física e dissolução de DS. Por outro lado, consequências negativas decorrentes da utilização de surfactantes podem potencialmente surgir. A redução da transição vítrea e o aumento da captação de água causadas por surfactantes podem afetar a estabilidade física das DS. A desnaturação térmica de surfactantes no processamento de extrusão por fusão pode afetar o desempenho deste na melhoria da dissolução do fármaco (GHEBREMESKEL, VEMAVARAPU, LODAYA, 2006).

Neste sentido, faz-se necessário um estudo de estabilidade na busca do entendimento de como os fatores de armazenamento, como temperatura e umidade, impactam na recristalização e dissolução desses sistemas, com e sem a presença de polímeros e surfactantes.

5.2 METODOLOGIA

5.2.1 Materiais

A CTD, matéria-prima, foi adquirida através empresa Pharmanostra, proveniente da do fornecedor IPCA Laboratories LTD/Índia. O alginato de sódio, 200000 g/mol foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich (Alemanha). O Soluplus® foi gentilmente doado pela empresa BASF®. O lauril sulfato de sódio foi proveniente da empresa Dinâmica® Química Contemporânea Ltda. Os reagentes utilizados foram de grau analítico e/ou grau para uso em CLAE. A água ultrapura utilizada nas análises foi obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q.

5.2.2 Obtenção das DS

A obtenção das DS foi realizado pela técnica de atomização por *spray drying*, de acordo com metodologia descrita capítulo III, seção 4.2.3 (página 74) em Mini Spray Dryer Buchi B-290 (Suíça), sob as condições: temperatura do ar (entrada e saída) de 185 °C e 105 ± 1 °C respectivamente. O fluxo da solução foi de 4 mL min^{-1} , fluxo de ar de 500 L h^{-1} e aspiração a 100 %. Após a obtenção das DS, todas as amostras foram armazenadas em dessecador, a temperatura ambiente.

5.2.3 Estudo de estabilidade

As amostras F1, F3, F16 foram selecionadas como as DS com maior índice de desejabilidade no capítulo anterior. Na escolha dessas considerou-se como respostas desejáveis maximizar a % de dissolução do fármaco (D_{90}), bem como a eficiência de dissolução (ED_{90}), com um mínimo de excipientes, ou seja maior % de CTD nas DS. Atribuiu-se valores de importância e peso iguais para os 3 fatores. Essas três amostras e a CTD SD foram submetidas a diferentes condições de umidade e temperatura no intuito de avaliar a estabilidade. As amostras foram depositadas em placas de petri, recobertas com filme de PVC e expostas as condições de estresse:

- $4 \text{ °C} \pm 4 \text{ °C}/50 \% \pm 10 \% \text{ umidade relativa (UR) em geladeira;}$
- $40 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}/0 \% \text{ de UR em estufa;}$
- $40 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}/65 \% \pm 10 \% \text{ UR em estufa.}$

A condição de umidade relativa deste último ambiente foi obtida através do uso de solução saturada de cloreto de sódio mantida em recipiente lacrado, conforme método descrito por Wexler e Hasegawa (1954). Termohigrômetros foram utilizados para monitorar eventuais variações de umidade e temperatura nas condições avaliadas.

A estabilidade das amostras foi monitorada através da avaliação da taxa de dissolução *in vitro*, DRXP, FTIR e MEV nos intervalos de tempos de 7, 14, 28 e 90 dias.

5.2.4 Ensaio de dissolução *in vitro*

Ensaio da dissolução *in vitro* das DS foram utilizados para monitorar a estabilidade das amostras submetidas a diferentes condições de estresse. Esses foram realizados em dissolutor Varian modelo VK 7000 equipado com o aparato de dissolução II (pá), conforme preconizado na USP 30 NF-25, 2007 para a CTD. Quantidades das DS equivalente a 50 mg de CTD pura foram pesados com precisão e submetidos a dissolução em 900 mL de água ultrapura, a 37 °C e agitação de 75 rpm. Alíquotas equivalentes a 5 mL foram coletadas nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 minutos. Estas foram posteriormente filtradas em membrana de celulose 0,45 µm e quantificadas em metodologia por CLAE, previamente validada. O método foi adaptado de YOUSSEF e colaboradores (2013). As análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu LC -10 com detector UV/VIS, coluna C18 (250 x 4,6 x 5 mm), utilizando como fase móvel isocrática a mistura de metanol e fosfato de sódio dibásico 25 mM pH 4,0 (ajustado com ácido fosfórico) na proporção 45:55 (v/v), respectivamente, fluxo de 1,0 mL.min⁻¹, temperatura de 25 °C, λ de 275 nm e volume de injeção de 20 µL.

A porcentagem de CTD dissolvida em 90 min foi avaliada estatisticamente por ANOVA e teste de Tukey (teste T).

5.2.5 Caracterização por técnicas do estado sólido

5.2.5.1 Difração de raios X de pó (DRXP)

Os difratogramas foram obtidos utilizando-se equipamento θ-θ D2 Phaser (Bruker), com uma radiação de cobre Kα (λ = 1,5418 Å), operando em uma corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com um detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, em porta amostras com

cavidade, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 50° , com step angular de $0,091^\circ$ s-1.

5.2.5.2 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) da CTD, polímero, surfactantes e DS foram obtidos diretamente do pó em equipamento PerkinElmer Frontier FT-IR, em uma faixa espectral de $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ com resolução espectral de $0,4\text{ cm}^{-1}$.

5.2.5.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A avaliação da morfologia das amostras foi realizada através da análise de fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura em microscópio Jeol, modelo JSM6390LV, sob voltagem de aceleração de 10 kV, em diferentes aumentos. A preparação prévia das amostras de DS envolveu a fixação de partículas destas amostras com fita adesiva dupla face em *stubs* e recobrimento com ouro em recobridora a vácuo Leica EM SCD 500.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Ensaio de dissolução *in vitro*

Os perfis de dissolução *in vitro* da CTD SD submetidas as diferentes condições de umidade e temperatura estão apresentados na Figura 26.

A avaliação através de ANOVA não indicou diferença estatística entre a porcentagem de CTD SD dissolvida quando submetida às condições de $4^\circ\text{C}/50\% \text{ UR}$ e $40^\circ\text{C}/0\% \text{ UR}$ durante o período de 90 dias. No entanto, uma diminuição foi observada já após 14 dias de armazenamento à $40^\circ\text{C}/65\% \text{ UR}$. A porcentagem de CTD SD dissolvida em 28 e 90 dias foi considerada diferente através do teste T, com redução de 28,73 % e 32,50 %, respectivamente. Além da diminuição na porcentagem de dissolução observou-se também redução na velocidade de dissolução, quando comparada a CTD SD tempo zero (t_0). Em t_0 a CTD SD apresentou uma dissolução de 53,85 % em 20 min, enquanto que as amostras coletadas nos tempos de 28 e 90 dias sob a condição de $40^\circ\text{C}/65\% \text{ UR}$ apresentaram dissolução menor que 30 % em 20 min.

Figura 26 - Perfis de dissolução da CTD SD submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.

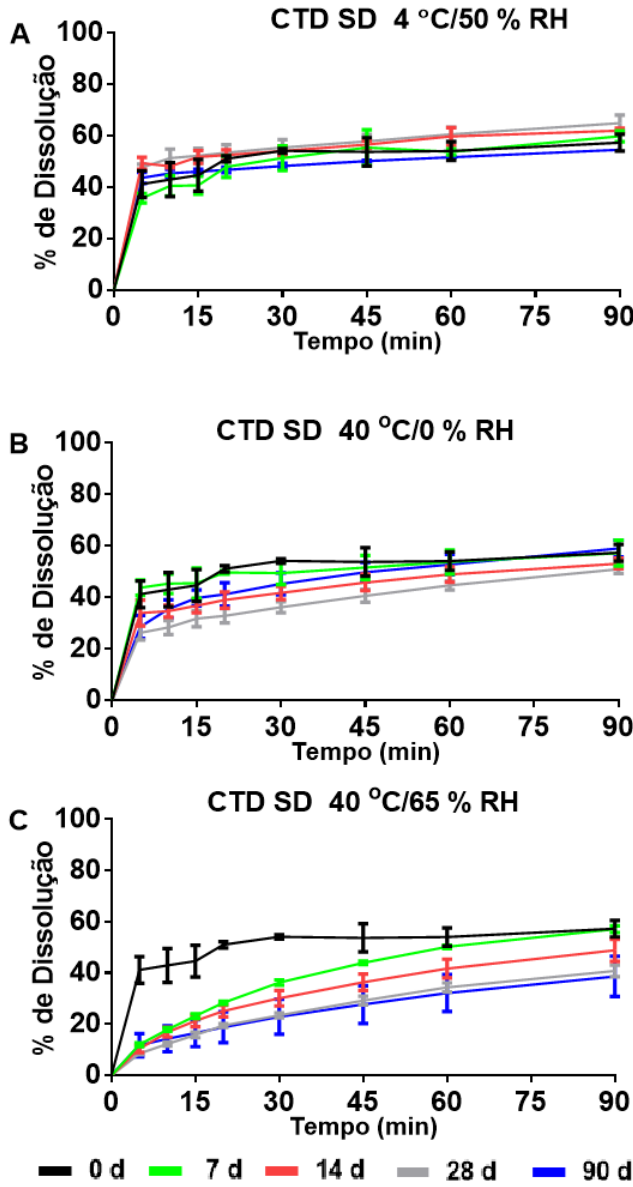
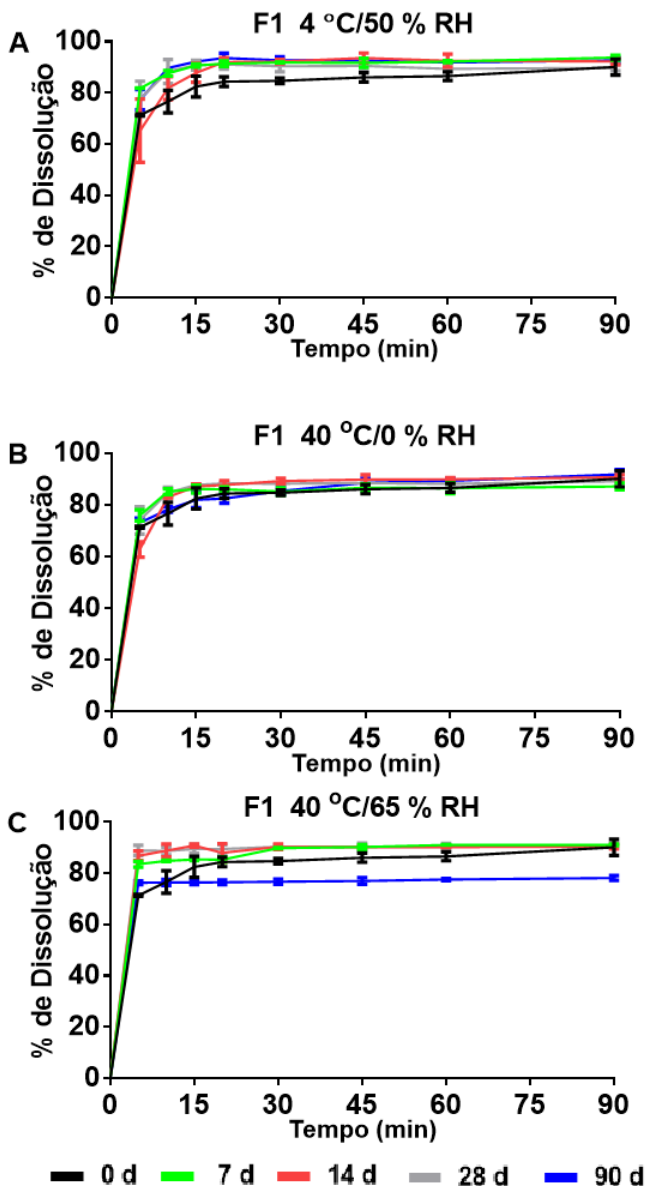


Figura 27 - Perfis de dissolução da DSA F1 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.



Os percentuais de dissolução dessas amostras, em 28 e 90 dias, foram menores que da CTD cristalina, provavelmente devido a formação de aglomerados .

A DSA F1 (Figura 27) apresentou perfis de dissolução visivelmente semelhantes ao apresentado no tempo zero, mesmo após 90 dias de armazenamento 4 °C/50 % UR e 40 °C/0 % UR. O percentual de dissolução da CTD em 90 min manteve-se em torno de 90 %, não apresentando diferença estatística significativa após 90 dias sob essas condições. Durante o armazenamento a 40 °C/65 % UR o percentual de dissolução da DSA F1 manteve-se semelhante a t_0 por um período de 28 dias. No entanto, após 90 dias essa amostra apresentou uma redução estatisticamente significativa de 11,97 % na dissolução do fármaco. Contudo, mesmo após 90 dias a DSA F1 ainda apresentou percentual de dissolução *in vitro*, em 90 min, 45,71 % maior que a matéria-prima utilizada no tempo zero.

Da mesma forma, a avaliação da DSA F3 (Figura 28) demonstra que o perfil de dissolução dessa amostra mantém-se semelhante ao tempo zero por 90 dias quando armazenada em geladeira (4 °C/50 % UR) ou a 40 °C sem a exposição a umidade (40 °C/0 % UR). No entanto, quando armazenada a 40 °C/65 % UR (com exposição a umidade) essa similaridade do perfil de dissolução mantém-se por apenas 28 dias ($p < 0,05$). Após 90 dias de armazenamento a 40 °C/65 % UR a DSA F3 mostrou redução significativa no percentual de dissolução do fármaco, obtendo uma liberação 12,29 % menor.

O armazenamento tanto a 4 °C/50 % UR quanto a 40 °C/0 % UR por 90 dias não proporcionou redução significativa no percentual de dissolução do fármaco (90 min) da DSS F16. No entanto, diferenças podem ser observadas nos perfis em 14 e 28 dias à 4 °C/50 % UR e em 14 e 28 dias à 40 °C/0 % UR. Por outro lado, quando a DSA F3 foi armazenada à 40 °C/65 % UR, as diferenças significativas no percentual de dissolução apareceram já após 14 dias. Uma redução de 22,45 % na dissolução do fármaco foi observada quando esta amostra foi comparada a amostra do tempo zero. No entanto, esse percentual de fármaco dissolvido ainda é 38,44 % superior a matéria-prima cristalina.

A avaliação do percentual de dissolução de amostras submetidas a diferentes condições de temperatura e umidade demonstrou que tanto a temperatura quanto a umidade exercem influência na redução da dissolução do fármaco. Esse efeito é mais pronunciado enquanto os dois

Figura 28 - Perfis de dissolução da DSA F3 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.

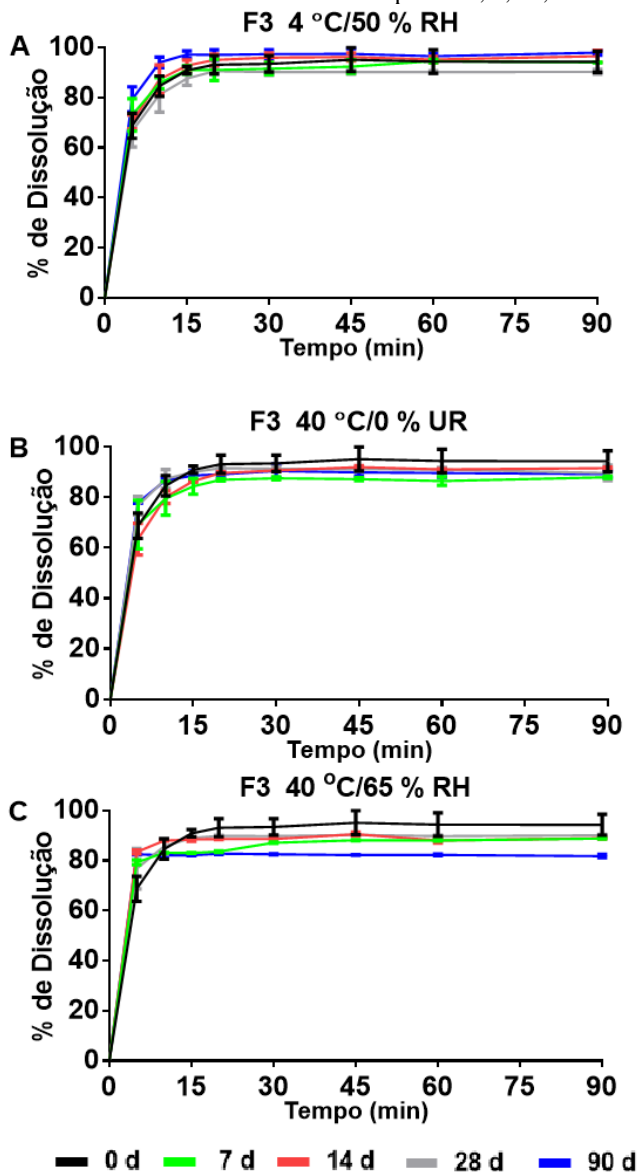
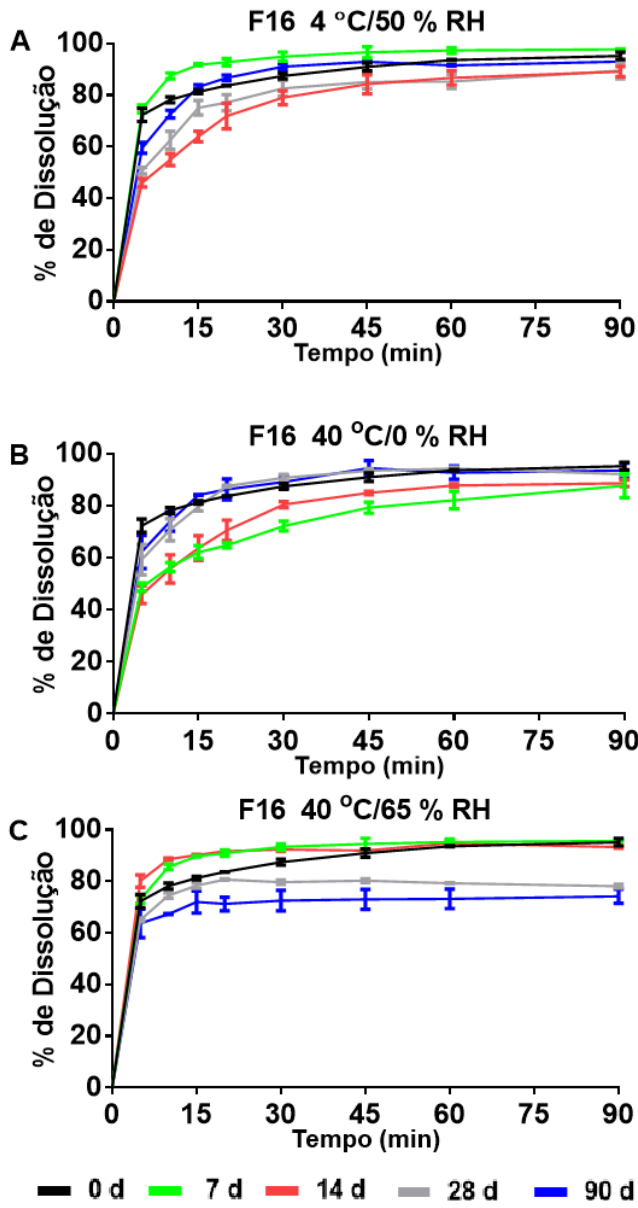


Figura 29 - Perfis de dissolução da DSS F16 submetida as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.



fatores são associados. Todas as amostras submetidas a 4 °C/50 % UR, baixa temperatura com umidade, e 40 °C/0 % UR, alta temperatura sem umidade, não apresentaram diferenças significativas na porcentagem CTD dissolvida por 90 dias. No entanto, a exposição dessas amostras a condição com maior temperatura e presença de umidade (40 °C/65 % UR) resultou em diminuição significativa na porcentagem de dissolução de todas as amostras após 90 dias. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Lust e colaboradores (2015) para DS de piroxicam-SOL. Após seis meses, as amostras armazenadas a umidade e temperatura intermediárias, bem como a alta umidade e temperatura intermediária mostraram diminuição acentuada na taxa de dissolução, enquanto que as DSA armazenadas sob condições de baixa umidade exibiram características de dissolução semelhantes as dispersões frescas.

Os sólidos amorfos podem interagir com água/umidade através de dois mecanismos: a adsorção das moléculas de água na superfície e/ou a absorção de água para dentro da estrutura. A absorção de água acontece devido a menor densidade da estrutura de sólidos amorfos, portanto, sólidos amorfos normalmente absorvem consideravelmente mais água que os seus homólogos cristalinos (ZHOU; KHOU, 2014). Essa água, muitas vezes, atua como plastificante em materiais amorfos, aumentando a mobilidade molecular e favorecendo a recristalização (LUST et al., 2015).

É importante ressaltar que mesmo após a exposição das amostras à temperatura e umidade, a presença de carreadores poliméricos e surfactantes continuam exercendo influência positiva na dissolução do fármaco tanto nas DSA F1 e F3 quanto na DSS F16.

5.3.2 Caracterização por técnicas do estado sólido

5.3.2.1 Difração de raios X de pó (DRXP)

As modificações no estado sólido foram monitoradas através da técnica de difração de raio X de pó. Os difratogramas das amostras expostas às 3 diferentes condições de temperatura e umidade estão apresentados nas Figura 30.1 e 30.2, CTD SD e F1, e na Figura 31.1 e 31.2, F3 e F16, respectivamente.

Quando submetida à condição de 4 °C/50 % UR a CTD SD, mantém-se amorfa por 28 dias. No entanto, após 90 dias observou-se reflexões em 2 θ nas posições 7.91 e 20.75. Essas posições não correspondem à CTD matéria-prima utilizada (polimorfo I). Esse fato

remete a possibilidade de recristalização em outras formas cristalinas ou recristalização de impurezas presentes na matéria-prima observadas pelo ensaio de pureza por DSC (dados não apresentados). O aumento da temperatura de armazenamento para 40 °C sem a exposição a umidade também proporcionou recristalização da CTD SD, na forma polimórfica I, após 28 dias. O armazenamento sob altas temperaturas é conhecido como um fator crítico na estabilidade de sólidos amorfos. Quando expostos à temperaturas superiores ou próximas a transição vítrea esses sistemas assumem alto grau de mobilidade molecular, tornando-se mais susceptíveis a alterações físicas e químicas, favorecendo sua recristalização (GUPTA; NUNES; JONNALAGADDA, 2013).

A CTD SD armazenada a 40 °C/65 % UR apresenta recristalização no polimorfo I logo após 7 dias, confirmando o efeito plastificante da água na recristalização do fármaco amorfo. A mudança na orientação preferencial, com um aumento da intensidade de algumas reflexões no padrão de DRXP e consequente supressão de outras pode ser resultado da morfologia e tamanho dos cristais. Por exemplo, sempre que houver a existência de cristais em forma de placa plana, ocorrerá uma tendência para a orientação das superfícies planas dentro da amostra, expondo preferencialmente estes planos para o feixe de raios X. Dessa forma, irá ocorrer um aumento da intensidade de reflexão dos planos maiores e redução da intensidade dos planos com menor exposição (CRISP; DANN; BLATCHFORD, 2011).

A avaliação dos difratogramas referentes as DSA F1 submetidas às diferentes condições de estresse (Figura 30.2) demonstram que quando exposta a 4 °C/50 % UR, mesmo após 90 dias, essa amostra continua mantendo sua estrutura amorfa, não apresentando reflexões na DRXP. Esse dado sugere que a mistura do carreador ALG e dos surfactantes SOL e LSS parecem influenciar positivamente na estabilização deste sistema amorfo, prevenindo a recristalização desse sistema. No entanto, quando exposta a temperatura de 40 °C/0 % UR a DSA F1 se mantém estável por somente 28 dias. A recristalização induzida pelo aumento da temperatura torna-se evidente nessa amostra após 90 dias. Da mesma forma que para a CTD SD, a recristalização induzida pela presença de água e aumento da temperatura (40 °C/65 % UR) ocorre já após 7 dias na DSA F1.

A avaliação da estabilidade da DSA F3 frente as condições de estresse submetidas demonstrou que a 4 °C/50 % UR a presença de 25 % de polímero ALG obteve impacto positivo na prevenção da recristalização desse sistema, provavelmente devido às características

Figura 30 - Difração de raios X de pó da CTD SD (1) e F1 (2) submetidas as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.

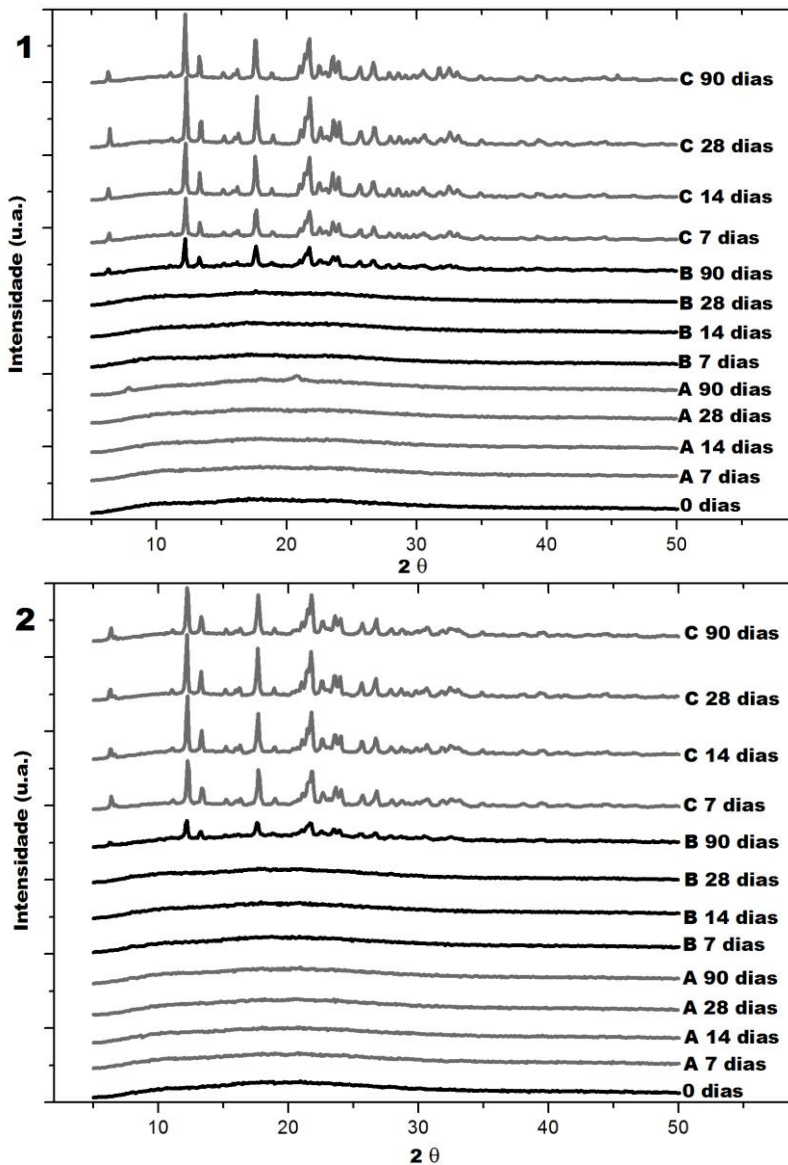
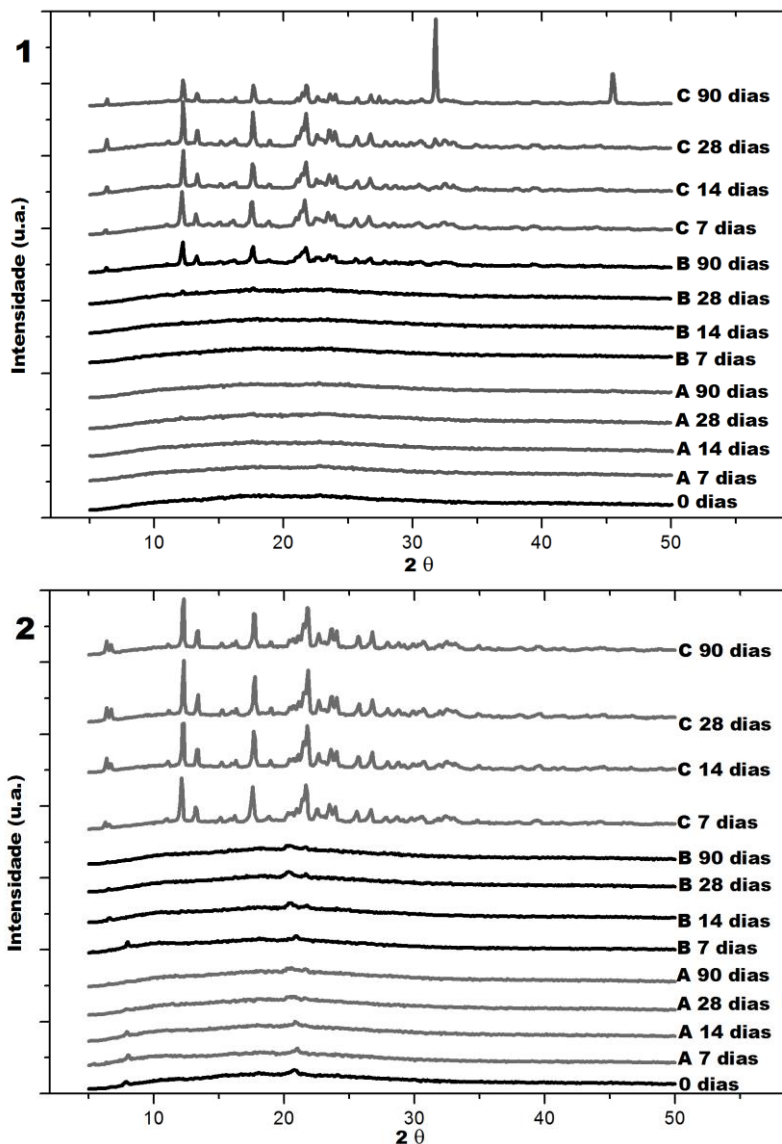


Figura 31 - Difração de raios X de pó da DSA F3 (1) e F16 (2) submetidas as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.



antiplastificantes do polímero. Quando submetida a condição de 40 °C/0 % UR a DSA F3 permaneceu amorfa por 28 dias, no entanto, após 90 dias foi possível observar recristalização da amostra. A exposição a 65 % UR e temperatura de 40 °C também promoveu a recristalização dessa DSA já após 7 dias.

Por outro lado, a DSS F16, a qual já não se apresentava totalmente amorfa, com reflexões na posição 2 θ em 7.91 e 20.84, apresentou deslocamento da reflexão 7.91 para a posição 6.63, nas condições 4 °C/50 % UR e 40 °C °C/0 % UR. Sugere-se que pode estar ocorrendo a conversão de uma forma cristalina menos estável para uma forma cristalina mais estável, visto que as reflexões em 2 θ referentes a forma cristalina da CTD e do LSS utilizados correspondem às posições 6.35 e 6.56, respectivamente. Semelhante aos resultados encontrados para as demais DS, a DSS F16 apresentou recristalização mais acentuada quando submetida à condição de 40 °C/65 % UR. Nas amostras submetidas à essa condição observam-se duas reflexões em 2 θ próximas a posição 6, sendo estas em 6.45 e 6.81, possivelmente devido a recristalização tanto do fármaco CTD quando do surfactante LSS.

Como os surfactantes comumente atuam como plastificantes, as possíveis razões para a melhor estabilidade das dispersões contendo os podem ser devido a capacidade destes em baixar a viscosidade da solução e aumentar a solubilidade e homogeneidade do fármaco no carreador polimérico. Embora seja possível que tensoativos desestabilizem o sistema abaixando a transição vítrea e aumentando a absorção de água, algumas vezes, este efeito é mínimo (GHEBREMESKEL, VEMAVARAPU, LODAYA, 2006).

Cabe ressaltar que mesmo ocorrendo a recristalização das DS estas ainda apresentam percentual de dissolução superior a CTD amorfa e cristalina. Este fato se deve à interrupção do empacotamento molecular causado pela dispersão das moléculas do fármaco em uma matriz sólida, os polímeros e surfactantes. Essa inserção de moléculas do carreador entre as moléculas de fármaco reduz a energia necessária para que ocorra a dissolução do fármaco (BELLATONE, 2014).

5.3.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

A análise de espectroscopia na região do infravermelho para a CTD SD (Figura 32) exposta a condição de 4 °C/50 % UR confirma os dados da DRXP. Não são observadas modificações até 28 dias e após 90 dias o aparecimento de bandas em 2921 cm⁻¹ e 2852 cm⁻¹ pode ser

devido ao aparecimento de novas formas cristalinas ou impurezas mencionadas anteriormente.

À temperatura de 40 °C/0 % UR, o espectro da CTD SD mantém as mesmas posições e formato das bandas até 28 dias. Após 90 dias sob essa condição observa-se o início do deslocamento das bandas alteradas durante a amorfização do fármaco. O estreitamento de bandas alargadas anteriormente torna-se visível nas amostras submetidas a 40 °C/65 % UR após o período de 7 dias. As mudanças nas bandas vibracionais em: 3360 cm^{-1} (estiramento NH), 3251 cm^{-1} (estiramento OH), 1685 cm^{-1} (estiramento C=O da amida), 1345 cm^{-1} e 1169 cm^{-1} (sulfonamida) indicam que a CTD volta a formar as interações intermoleculares no arranjo inicial da estrutura cristalina, confirmando os resultados já encontrados na DRXP.

A análise de FTIR das DSA F1 (Figura 33) mostra que esta mantém espectros semelhantes ao tempo zero nas condições de 4 °C/50 % UR e 40 °C/0 % UR por 90 dias. Este fato indica ainda a presença de CTD amorfa nessas amostras. Os indícios de recristalização detectados por DRXP não foram observados por esta técnica de caracterização, em 90 dias, para estas condições de armazenamento. Já quando submetidas a 40 °C/65 % UR, as mudanças nos espectros tornam-se visíveis confirmando a recristalização observada no DRXP.

Os espectros da DSA F3 (Figura 34) mostram que essa DS exibe comportamento semelhante a DSA F1, mantendo espectro semelhante ao inicial quando submetida a 4 °C/50 % UR por 90 dias e 40 °C/0 % UR por 28 dias. Mudanças no espectro da DSA F3 são observadas após 90 dias quando submetida à 40 °C/0 % UR e após 7 dias à 40 °C/65 % UR, confirmando a recristalização já observada na DRXP.

O armazenamento da DSS F16 à 4 °C/50 % UR e 40 °C/0 % UR não proporcionou modificações no espectro de FTIR dessas amostras (Figura 35), mesmo após 90 dias. No entanto, quando exposta à condição de 40 °C/65 % UR as modificações nos espectros da DSS F16 tornam-se evidentes, indicando a sua recristalização após 7 dias, em conformidade com os dados da DRXP. Nesses espectros da DSS F16, com bandas mais estreitas, torna-se evidente também a banda referente ao SOL em 1731 cm^{-1} , anteriormente sobreposta pela banda alargada da carbonila da CTD.

Figura 32 - Espectroscopia no infravermelho da CTD SD submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.

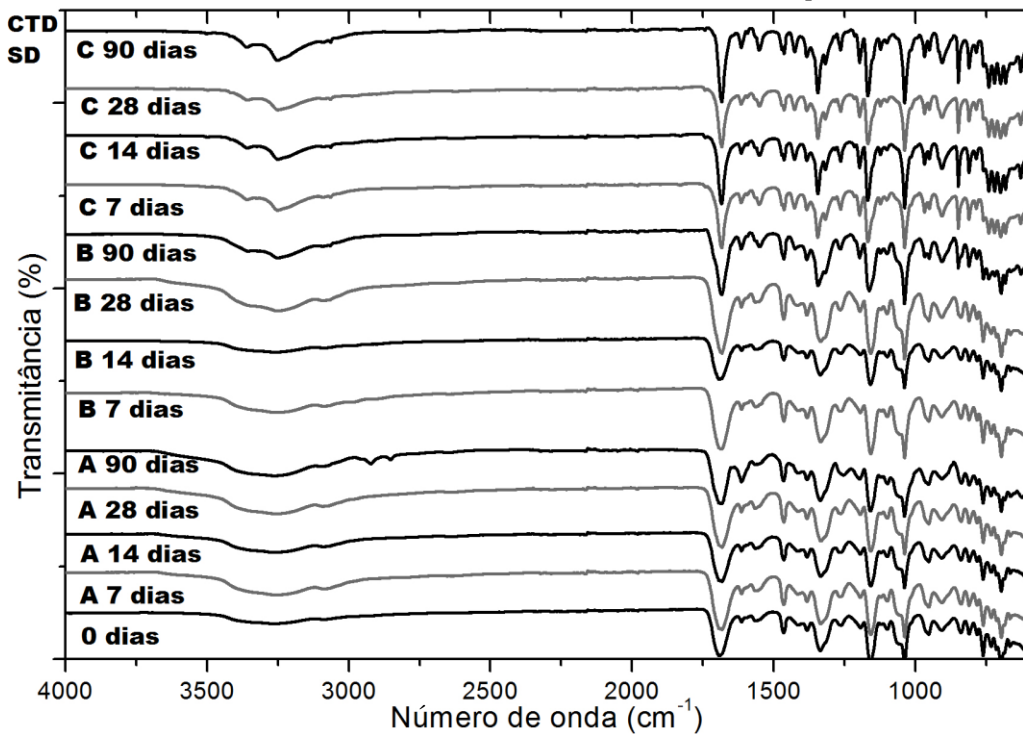


Figura 33 - Espectroscopia no infravermelho da DSA F1 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias

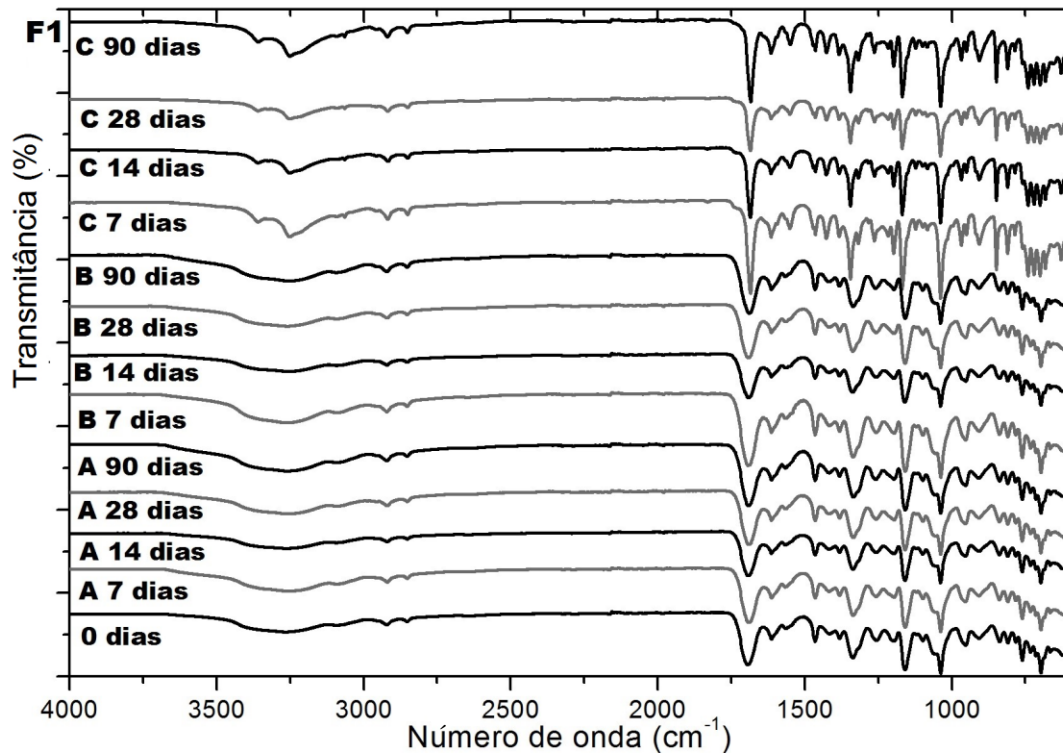


Figura 34 - Espectroscopia no infravermelho da DSA F3 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.

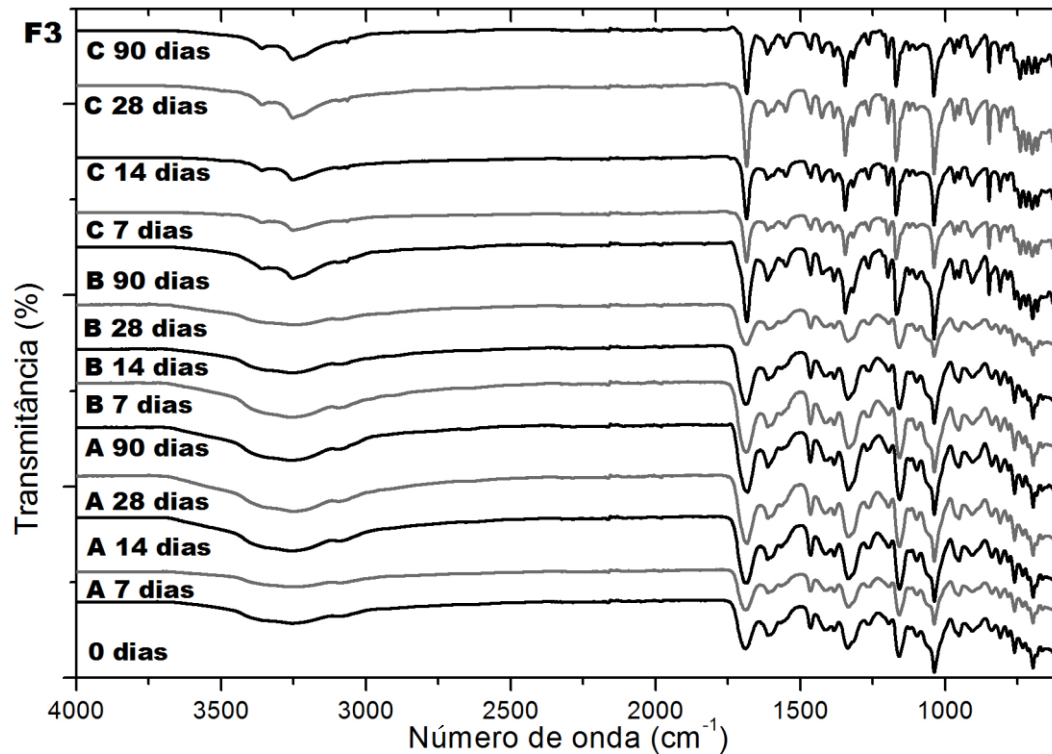
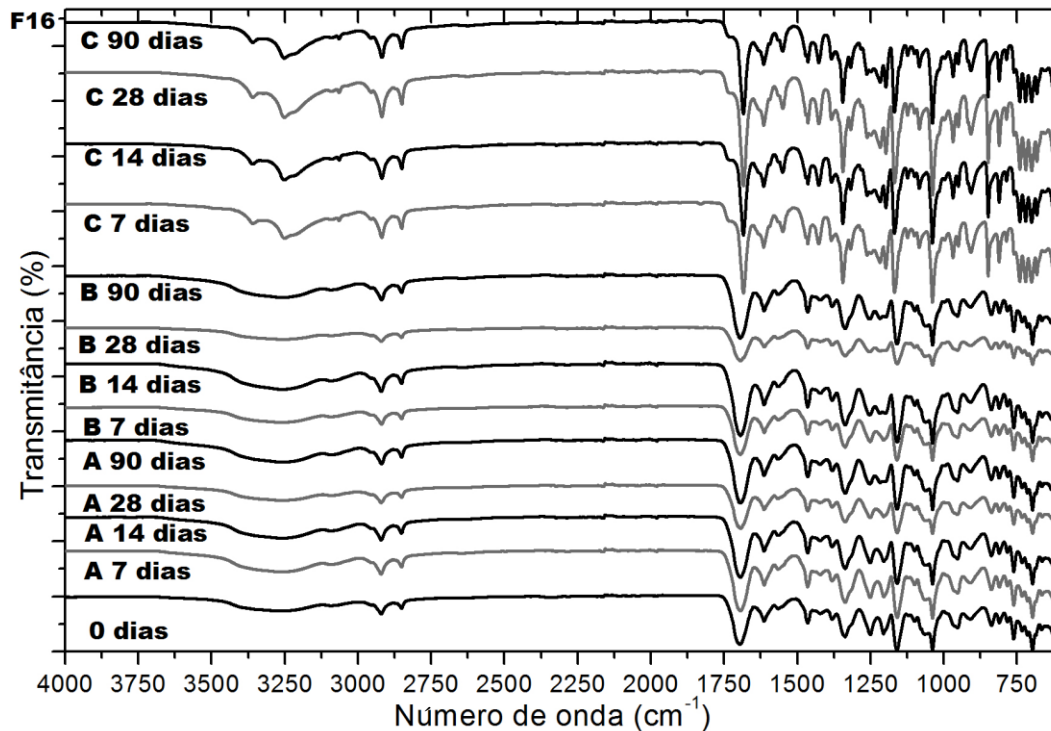


Figura 35 - Espectroscopia no infravermelho da DSA F16 submetida às condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR. Amostras foram retiradas e analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 28 e 90 dias.



5.3.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A maioria das amostras armazenadas a 4 °C/50 % UR e 40 °C/0 % UR (Figura 36) conservaram a morfologia das partículas esféricas. No entanto, as amostras armazenadas a 40 °C/65 % UR foram solidificando com o passar do tempo e formando aglomerados. Essa solidificação pode ser claramente observada nas Figura 36C. A CTD SD parece exibir grau de compactação maior que o observado nas DSA e DSS, característica essa que pode ter influenciado na dissolução dessas amostras. A redução na velocidade e percentual de dissolução da CTD SD, quando comparada à CTD matéria-prima, pode ser procedente de alterações do tamanho de partícula e morfologia desta amostra.

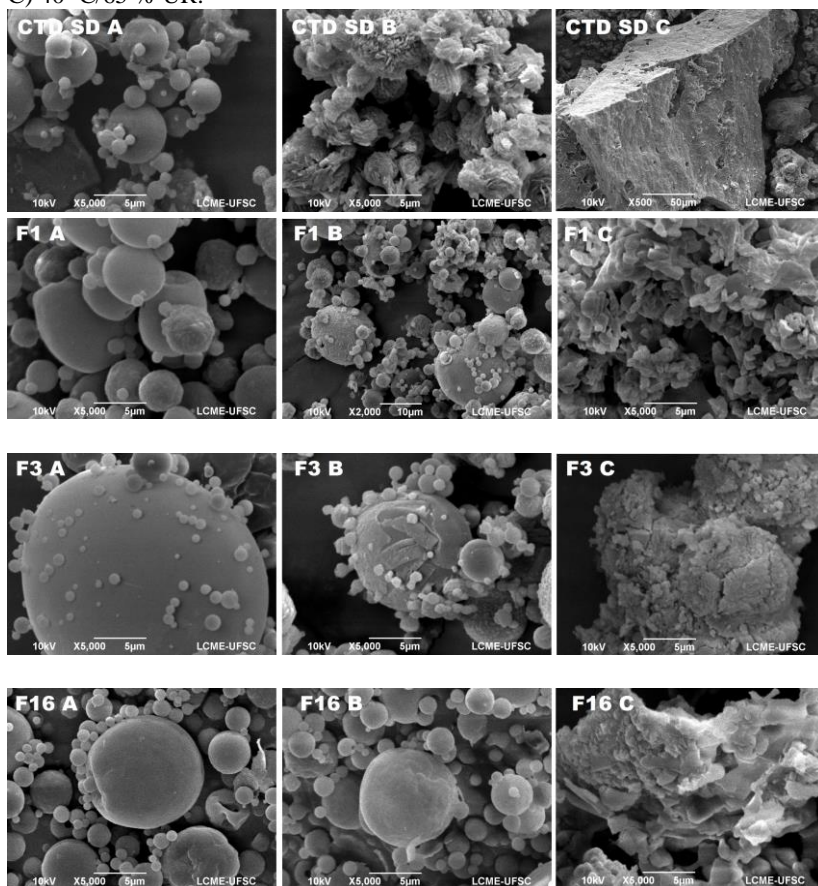
As fotomicrografias de partículas das DS (Figura 36), nas condições A e B, mostram o surgimento de diferentes contornos na superfície dessas partículas, sugerindo a recristalização do fármaco na superfície. A elevada mobilidade das moléculas de superfície é qualitativamente entendida a partir do seu ambiente especial. Uma molécula de superfície tem menor número de vizinhas do que uma molécula do interior da partícula e assim, possui uma maior liberdade de movimento (YU et al., 2015). Estudos recentes sugerem que o crescimento de cristais em sólidos amorfos podem ser de ordens de grandeza mais rápida na superfície livre do que no interior.

Geralmente, na cristalização superficial, inicialmente o grau de cristalinidade aumenta e depois estabiliza em níveis bem abaixo de 100 % de cristalinidade. A cinética de cristalização é aumentada conforme ocorre a diminuição do tamanho de partícula, devido ao aumento da razão superfície/volume (SUN et al., 2012).

Um estudo envolvendo o fármaco felodipino-SOL, no qual a nucleação e crescimento de cristais ocorreu espontaneamente na superfície de DS, mostrou que a recristalização pode ser reduzida significativamente com o aumento da concentração de polímero e/ou com o recobrimento desses sistemas por uma camada de polímero (TIAN; JONES; ANDREWS, 2015).

Uma alternativa para reduzir a cristalização de DS como as da CTD poderia ser secagem da solução das amostras em leito fluidizado sobre péletes inertes de açúcar ou celulose. Dessa forma, seriam obtidas amostras com maior tamanho de partícula e menor área superficial. Essa técnica também possibilitaria o recobrimento das DS desenvolvidas com uma camada de polímero ou outro excipiente que possa dificultar a recristalização do fármaco.

Figura 36 - Fotomicrografias da CTD SD, F1, F3 e F16 após 90 dias submetidas as condições de umidade e temperatura: A) 4 °C/50 % UR, B) 40 °C/0 % UR e C) 40 °C/65 % UR.



5.4 CONCLUSÃO

Os sistemas desenvolvidos foram capazes de manter a porcentagem de dissolução por 90 dias quando submetidos às condições de 4 °C/50 % UR e 40 °C/0 % UR. A CTD SD, fármaco amorfo, apresentou recristalização mesmo quando armazenada a baixas temperaturas. Os aditivos usados nas formulações, polímeros e

surfactantes, mostraram efeito positivo na prevenção da recristalização a 4 °C/50 % UR.

No entanto, os aditivos utilizados não foram capazes de prevenir a recristalização quando as DS foram expostas a temperaturas mais altas (40 °C) com ou sem a presença de umidade. Este fato leva a crer que os sistemas desenvolvidos possuem temperatura de transição vítrea baixa, a qual favorece a alta mobilidade molecular e consequentemente a recristalização.

Outros mecanismos de cristalização como o de superfície podem estar envolvidos, devido ao reduzido tamanho das partículas e elevada área superficial. Alternativas como o recobrimento dessas partículas, ou o aumento da porcentagem de polímero podem ser futuramente testadas na tentativa de estabilização das DS de CTD.

Capítulo V

ESTUDOS DE DISSOLUÇÃO ENVOLVENDO CONDIÇÕES DE SUPERSATURAÇÃO

6 ESTUDOS DE DISSOLUÇÃO ENVOLVENDO CONDIÇÕES DE SUPERSATURAÇÃO

6.1 INTRODUÇÃO

A alta lipofilicidade de fármacos, e consequentemente baixa hidrofiliicidade, vem se tornando cada vez mais prevalente entre os candidatos a novos fármacos. Este fato requer que abordagens sejam desenvolvidas para contornar essa baixa solubilidade aquosa uma vez que a dissolução é um pré-requisito para a absorção intestinal de fármacos (WILLIAMS et al., 2013).

Recentemente, estudos relatam que alguns sistemas são capazes de formar soluções supersaturadas. O aumento da taxa de dissolução pode fazer com que o fármaco seja dissolvido a uma concentração acima da sua solubilidade de equilíbrio. Essa condição de supersaturação, mesmo que provisória, no trato gastrointestinal atua como uma força motriz para que ocorra a permeação do fármaco através da membrana intestinal. Dessa forma, esse fármaco atinge a circulação sistêmica para desempenhar o seu efeito terapêutico. Portanto, o uso de sistemas supersaturados de liberação de fármacos (SDDS, no inglês *supersaturating drug delivery systems*) é considerado promissor na obtenção de uma biodisponibilidade oral adequada de fármacos pouco hidrossolúveis (BEVERNAGE, et al., 2013; BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2008).

Entre os sistemas capazes de promover supersaturação destacam-se as DS, nanopartículas, sais cristalinos, cocristais, fármacos amorfos e profármacos. O uso de DS, no qual o fármaco amorfo está em uma alta energia, pode proporcionar uma dissolução rápida do fármaco gerando concentrações intraluminais acima da sua solubilidade de saturação. Essa condição de supersaturação beneficia principalmente fármacos que possuem baixa biodisponibilidade oral limitada pela solubilidade, como os fármacos SCB II e IV (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2008, FOTAKI et al., 2014).

No entanto, para que essa condição de supersaturação induzida por SDDS seja eficiente a solução supersaturada deve ter efeito prolongado, a fim de permitir uma absorção significativa do fármaco. Como o estado supersaturado é termodinamicamente instável, o uso de aditivos utilizados em DS pode prolongar e estabilizar o nível de supersaturação. Surfactantes e polímeros podem atuar como inibidores de precipitação, tanto através do aumento da solubilidade de fármacos

poucos solúveis, quanto pela inibição da nucleação e crescimento dos cristais (BEVERNAGE, et al., 2013; GUZMÁN et al., 2007; LIU; TAYLOR; EDGAR, 2015).

A avaliação das DS como um sistema que causa supersaturação *in vivo* requer a adaptação do ensaio de dissolução *in vitro*. Geralmente, utiliza-se condição não *sink*, reduzindo o volume de meio. Esses métodos de dissolução utilizando condições não *sink* são adequados para medir o desempenho real de SDDS através da avaliação da extensão da supersaturação gerada, da nucleação e cinética de crescimento de cristais. Estudos recentes têm utilizado esses ensaios de dissolução *in vitro* com meios biorrelevantes, em condições não *sink*, como ferramentas preditivas para a precipitação *in vivo*, cinética de solubilidade e supersaturação de sólidos amorfos (FOTAKI et al., 2014; SUN, WEN, TAYLOR, 2016). Dessa forma, é relevante e necessária a avaliação das DS desenvolvidas em ensaios de dissolução *in vitro* que possam simular a capacidade dessas em produzir supersaturação *in vivo*.

6.2 METODOLOGIA

6.2.1 Materiais

A CTD, matéria-prima, foi adquirida através empresa Pharmanostra, proveniente da do fornecedor IPCA Laboratories LTD/Índia. O alginato de sódio, 200000 g/mol foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich (Alemanha). O Soluplus® foi gentilmente doado pela empresa BASF®. O lauril sulfato de sódio foi proveniente da empresa Dinâmica® Química Contemporânea Ltda. Os reagentes utilizados foram de grau analítico e/ou grau para uso em cromatografia líquida de alta eficiência. A água ultrapura utilizada nas análises foi obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q. O meio biorrelevante simulando o fluido intestinal em jejum (FaSSIF, em inglês *Fasted State Simulated Intestinal Fluid*), em pó foi adquirido a partir de Biorelevant.com (Surrey, Reino Unido). A sua composição e algumas características estão descritas na Tabela 10.

Tabela 10 - Composição do meio biorrelevante simulando o meio intestinal em jejum (FaSSIF).

Composição	
Taurocolato de Sódio (mM)	3.0
Lecitina (mM)	0.75
Cloreto de Sódio (mM)	105.9
Hidróxido de Sódio (mM)	8.7
Fosfato de Sódio Monobásico (mM)	28.4
Parâmetros Característicos	
pH	6.5
Osmolaridade (mOsm/kg)	270 ± 10

6.2.2 Estudos de dissolução em condição de supersaturação

Os estudos de supersaturação foram aplicados à CTD SD, CTD cristalina e às DS F1, F3, F16. Estas DS foram selecionadas no capítulo III por possuírem maior índice de desejabilidade entre as demais de acordo com os parâmetros desejados.

Os meios selecionados para os estudos de supersaturação foram água e meio biorrelevante simulando o intestino delgado em estado não alimentado (FaSSIF). A escolha desses meios ocorreu devido a não ionização do fármaco no trato gastrointestinal e pelos relatos da literatura que citam o FaSSIF como um meio capaz de prever razoavelmente a precipitação de SDDS em fluidos intestinais (BEVERNAGE et al., 2013, BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJS, 2009).

Quantidade de amostras equivalentes a 10 vezes a solubilidade da CTD cristalina foram pesadas e adicionadas aos meios de dissolução, conforme recomendação por Murdande e colaboradores (2011). Esses autores sugerem que a avaliação de sistemas amorfo em condições não *sink* seja realizada em dissolutor, aparato II USP, 250 mL de meio, sob agitação de 150 rpm. Inicialmente procede-se a dissolução de uma replicata de cada amostra sob as condições acima citadas. Os resultados obtidos nesse ensaio foram comparados com resultados obtidos por amostras submetidas à dissolução em agitador magnético. Como os perfis apresentados em ambos os aparatos foram considerados semelhantes, a dissolução das demais replicatas foi realizada em agitador magnético sob as condições descritas a seguir.

As amostras foram adicionadas a um frasco contendo 50 mL dos meios acima mencionados e foram mantidas sob agitação magnética de

aproximadamente 150 rpm a $37 \pm 0,2$ °C utilizando um banho termostatzado. Em intervalos de tempo pré-determinados (5,10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360 e 480 min) alíquotas foram coletadas, filtradas com membrana de poliamida 0,45 μm e rapidamente diluídas em metanol/água a fim de evitar precipitação das amostras. As soluções foram quantificadas por CLAE e a fase sólida residual foi analisada por DRXP, conforme metodologias descritas no Capítulo III.

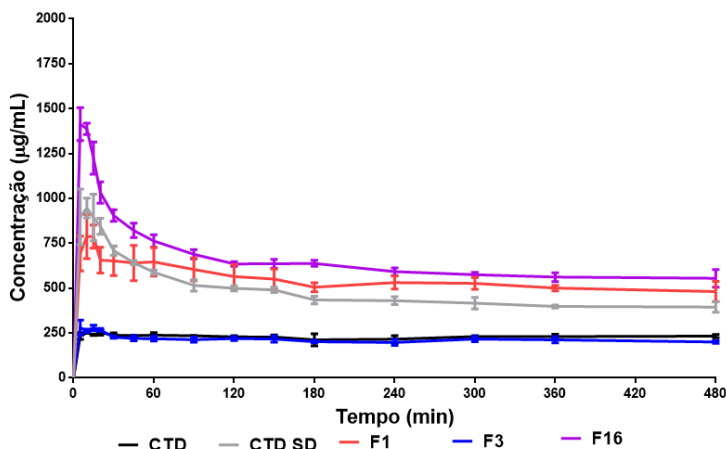
Os cálculos de AUC (área sob a curva) bem como os cálculos estatísticos de ANOVA e teste de Tukey foram realizados em software GraphPad Prism.

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Estudos de dissolução em condição de supersaturação utilizando água

Os resultados dos ensaios de dissolução em condição de supersaturação utilizando água como meio de dissolução podem ser visualizados na Figura 37.

Figura 37 - Estudos de dissolução em condição de supersaturação da F1, F3, F16, CTD SD (amorfa) e CTD cristalina usando como meio água ultrapura, a $37 \pm 0,2$ °C, sob agitação de aproximadamente 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.



Para uma melhor compreensão, os dados de concentração máxima (C_{\max}), tempo para atingir essa concentração máxima (T_{\max}) e área sobre a curva (AUC) estão apresentados na Tabela 11.

A CTD SD, fármaco amorfo, proporcionou sua C_{\max} de supersaturação em 10 min, sendo esta equivalente a 3,8 vezes a concentração de equilíbrio (C_{eq}) da CTD cristalina em água. Conforme já relatado pela literatura, essa alta energia do sistema amorfo pode causar um nível de supersaturação do fármaco. No entanto, a partir dessa solução supersaturada as moléculas dissolvidas tendem a formar pequenos aglomerados/agregados (nucleação), que podem crescer a cristais macroscópicos (crescimento dos cristais). Dessa forma, ocorre então a precipitação devido a menor solubilidade da forma cristalina (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2008, OZAKI et al., 2012; WARREN et al., 2010).

Tabela 11 - Concentração máxima (C_{\max}), tempo para atingir essa concentração máxima (T_{\max}) e cálculo da área sobre a curva (AUC) dos estudos de supersaturação utilizando meio água ultrapura, a $37 \pm 0,2$ °C, sob agitação de aproximadamente 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.

Amostra	AUC ₀₋₄₈₀ ($\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Cmax ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Tmax (min)
CTD SD	226787	946,61 \pm 54,67	10
CTD	109165	251,36 \pm 1,61	10
F1	260339	787,61 \pm 123,33	10
F3	102805	279,72 \pm 41,94	5
F16	310040	1413,53 \pm 92,23	5

A DSA F1, contendo 25 % de aditivos, sendo uma mistura do polímero ALG, e os surfactantes SOL e LSS, apresenta nível de supersaturação máxima em 10 min, sendo esta 3,2 vezes a C_{eq} da CTD cristalina. Os polímeros e surfactantes, muitas vezes incorporados às dispersões no intuito de melhoria da molhabilidade e velocidade de dissolução, possuem importante papel como inibidores de precipitação de sistemas supersaturados (BROUWERS, BREWSTER, AUGUSTIJNS, 2008). Embora a C_{\max} de supersaturação da CTD SD tenha sido superior a da DSA F1, observa-se uma maior velocidade de conversão da fase amorfa da CTD SD em CTD cristalina, que precipita

mais rapidamente. Assim, após 45 min o grau de supersaturação proporcionado pela CTD SD passa a ser menor que o da DSA F1.

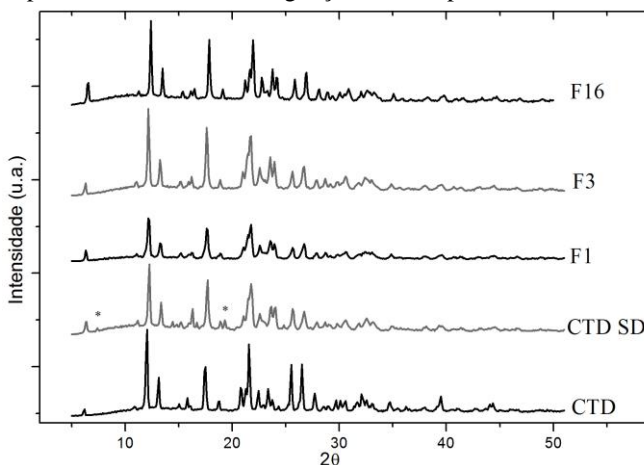
A AUC representa uma medida geral da extensão da supersaturação, levando em conta tanto o grau como a duração de supersaturação. Conforme observado na Tabela 11, a DSA F1 apresenta uma AUC 14,8 % maior que da CTD SD. Um trabalho recentemente publicado utilizando DSA de fenofibrato relata a capacidade de manutenção da supersaturação utilizando SOL. Este é um surfactante e também um copolímero, atua como inibidor da nucleação e crescimento dos cristais por adsorção na interface cristalina do fármaco, impedindo desse modo o crescimento do cristal e consequentemente a precipitação (ZHANG et al., 2012). A presença de surfactantes pode também contribuir na solvatação das moléculas dissolvidas, aumentando a energia de ativação requerida para a dessolvatação durante a nucleação e crescimento dos cristais (OVERHOFF et al., 2008). Já um trabalho realizado com o fármaco Ciclosporina demonstra a capacidade da associação SOL-LSS em manter o estado termodinamicamente instável de supersaturação durante várias horas, a qual pode proporcionar uma melhor absorção oral, em comparação ao uso do SOL isolado (XIA et al., 2016).

Por outro lado, trabalhos envolvendo o polímero ALG demonstram que este parece ter pouca ou nenhuma influência na inibição da recristalização (CURATOLO; NIGHTINGALE; HERBIG, 2009; WARREN et al., 2010). Esse feito pode ser claramente observado na DSA F3, a qual é composta unicamente pela associação da CTD (75 %) ao polímero ALG (25 %) e não apresenta níveis de supersaturação significativamente maiores que a CTD cristalina. No entanto, os dois trabalhos acima citados geraram a supersaturação através da adição de fármacos já dissolvidos em solventes orgânicos, diferente deste trabalho no qual foram adicionados amostras sólidas, as quais primeiramente necessitaram se dissolver, supersaturar e posteriormente recristalizar. Assim, ao compararmos o comportamento do fármaco amorfo (CTD SD) frente ao da DSA F3, nota-se que o polímero ALG não só deixa de inibir a recristalização, mas parece alterar ou acelerar etapas do processo de dissolução, supersaturação e recristalização do fármaco. Considerando as características do ALG, uma das hipóteses seria que o microclima gerado pelo polímero poderia alterar a viscosidade dificultando a liberação do fármaco, visto que este pode também ser utilizado em formas farmacêuticas de liberação prolongada (MANDAL; BASU; SA, 2009). No entanto, essa desaceleração na liberação não foi observada durante a dissolução em

condições *sink*. Outra hipótese seria uma alteração da cinética de conversão do fármaco amorfo, semelhante ao fenômeno observado com alguns cocristais. No caso de cocristais altamente solúveis, embora apresentem potencial de gerar alta supersaturação em relação ao fármaco, quando submetidos à ensaios de dissolução, às vezes, a precipitação ocorre de forma imediata. A concentração em solução é mantida próxima ou a igual a do fármaco devido a rápida e imediata conversão, resultando, algumas vezes, em valores subestimados ou até mesmo errôneos (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

A DSS F16, composta por CTD (75 %) associada a SOL-LSS (25 %), apresentou os maiores níveis de supersaturação, com um $C_{\max} = 1413,53 \pm 92,23 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em 5 min. Os resultados obtidos confirmam a capacidade da associação desses dois surfactantes em proporcionar e manter os níveis de supersaturação do fármaco, com uma AUC 36,7 % maior que a CTD SD. Xia e colaboradores (2016) relatam a capacidade do SOL-LSS de formar complexos. Quando é induzida uma supersaturação do fármaco em soluções contendo estes complexos, as moléculas de fármaco livres difundem rapidamente para o espaço hidrofóbico desses complexos, causando uma supersaturação elevada, que no caso da ciclosporina se manteve por 4h.

Figura 38 - DRXP do sólido recuperado após os estudos de supersaturação das amostras F1, F3, F16, CTD SD (amorfa) e CTD cristalina usando como meio água ultrapura, a $37 \pm 0,2^\circ\text{C}$, sob agitação de 150 rpm.



Os resultados da DRXP (Figura 38) dos sólidos recuperados após os estudos de supersaturação confirmam a formação de precipitado cristalino em todas as amostras. A presença de pequena porcentagem de impurezas ou recristalização em outras formas cristalinas, já observadas no estudo de estabilidade da CTD SD, é também observada neste sólido através das reflexões em 2θ nas posições 7.37 e 19.27. Ressalta-se, ainda que essas reflexões não são observadas na presença de polímeros e surfactantes. Os difratogramas dos sólidos recuperados das DSA F1 e F3 e DSS F16 apresentam apenas reflexões em 2θ referentes ao fármaco cristalino, polimorfo I.

6.3.2 Estudos de dissolução em condição de supersaturação utilizando meio biorrelevante FaSSIF

A fisiologia gastrointestinal, incluindo hidrodinâmica, pH, tensão superficial, viscosidade e composição dos fluídos, pode afetar a condição de supersaturação intraluminal de fármacos, afetando cinética de precipitação do fármaco. Dessa forma, diversas revisões da literatura têm enfatizado que o uso de meios biorrelevantes na dissolução *in vitro* pode representar uma melhor correlação *in vitro in vivo* (BEVERNAGE et al., 2013; BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2008).

Um estudo de supersaturação em meio biorrelevante foi conduzido em condições não *sink* utilizando o meio biorrelevante FaSSIF buscando uma melhor correlação *in vitro in vivo* (IVIV). Os resultados podem ser visualizados na Figura 39. Dados como C_{\max} , T_{\max} e AUC estão apresentados na Tabela 12.

O estudo de supersaturação da CTD SD em FaSSIF proporcionou uma C_{\max} de supersaturação de $1604,33 \pm 77,91 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em 10 min, sendo esta equivalente a 5,8 vezes a concentração de equilíbrio (C_{eq}) da CTD cristalina. A lecitina e sais biliares, como o taurocolato, são conhecidos como tensoativos naturais, os quais podem atuar como inibidores de cristalização através da solubilização do fármaco (HOLM; MÜLLERTZ; MU; 2013). Esse fenômeno de solubilização é observado pelo aumento da C_{\max} de supersaturação da CTD SD de 69,5 % com relação ao meio utilizando água. No entanto, a recristalização não é ainda totalmente inibida e a concentração de CTD SD continua a reduzir com o passar o tempo.

Figura 39 - Estudos de dissolução em condição de supersaturação das amostras F1, F3, F16, CTD SD (amorfa) e CTD cristalina usando como meio biorrelevante FaSSIF, a $37 \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, sob agitação de 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.

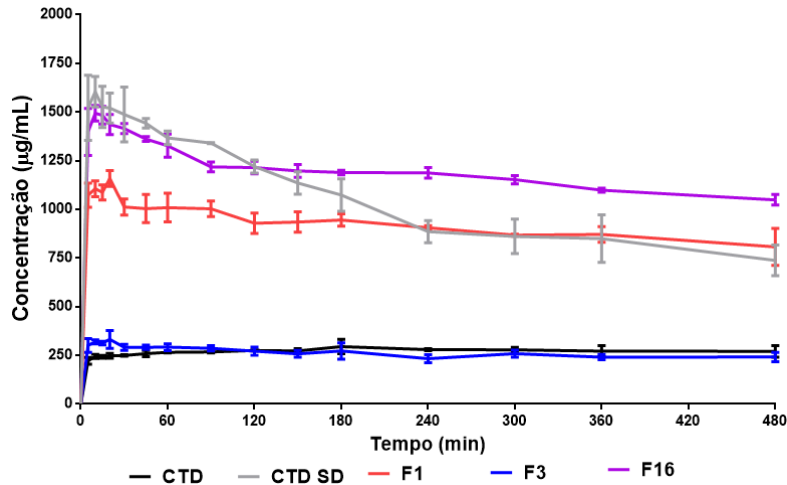


Tabela 12 - Concentração máxima (C_{\max}), tempo para atingir essa concentração máxima (T_{\max}) e cálculo da área sobre a curva (AUC) dos estudos de supersaturação utilizando meio biorrelevante FaSSIF, a $37 \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, sob agitação de 150 rpm. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.

Amostra	AUC ₀₋₄₈₀ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Cmax ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Tmax (min)
CTD SD	490431	1604,33 \pm 77,91	10
CTD	130321	294,33 \pm 34,11	180
F1	437262	1158,52 \pm 41,06	20
F3	124161	318,80 \pm 10,28	5
F16	565310	1494,06 \pm 39,38	10

A DSA F1, atinge o C_{\max} em 20 min, embora não seja a maior concentração de supersaturação atingida, equivale a 4,6 vezes a C_{eq} da CTD cristalina. Através da sua relação AUC da DSA F1, nota-se que esta é 12,1 % menor que o fármaco amorfo, porém ainda representa um aumento na AUC de 235,5 % com relação a CTD cristalina. A literatura

relata que sistemas capazes de sustentar a supersaturação durante pelo menos 2 horas (fisiologicamente relevante), como a DSA F1, representam formulações viáveis que podem ser investigadas *in vivo*. Por outro lado, sistemas com capacidade de manter supersaturação em tempo menor que 60 min necessitam de uma avaliação cuidadosa, pois estes podem ser propensos a maior variabilidade farmacocinética (FOTAKI et al., 2014), como é o caso da DSA F3, a qual embora amorfa não apresentou supersaturação significativa com relação a CTD cristalina.

Já a DSS F16 não apresenta diferenças significativas quanto ao C_{max} de supersaturação atingido em meio aquoso e meio biorrelevante, ao contrário da CTD SD, a qual obteve um aumento de solubilização em meio biorrelevante. Na DSS F16, os sais biliares e a lecitina parecem contribuir com os aditivos utilizados, SOL-LSS, na inibição da taxa de recristalização do fármaco. Esse efeito pode ser devido a maior solubilização do fármaco no meio tanto pela ação dos surfactantes da DSS quanto dos surfactantes fisiológicos naturais. Resultados semelhantes foram observados por Mah e colaboradores (2016), nos quais a presença de surfactantes naturais resultou em elevadas concentrações de dissolução de diferentes formulações amorfas de indometacina, por um tempo prolongado.

Na DSS F16, a redução da condição de supersaturação mostra-se mais acentuada nos primeiros 90 min, no entanto enquanto que a redução na supersaturação da CTD amorfa continua a diminuir após 90 min, a concentração de supersaturação produzida pela DSS F16 parece estabilizar em 90 min, não apresentando redução significativa ($p < 0,05$) em até 360 min. Esse fato demonstra a eficiência de aditivos como o SOL e LSS, que mesmo em pequenas proporções (25 %), podem ser importantes na estabilização e na manutenção da supersaturação de sólidos amorfos.

Atualmente, SDDS são frequentemente avaliados usando métodos de dissolução farmacopeicos ligeiramente adaptados. Como estes métodos são geralmente executados em condições de imersão (volumes grandes de dissolução ou alta concentração de surfactante), estes só são adequados para a avaliação da cinética de liberação, por exemplo, num contexto de controle de qualidade. No entanto, para que as ferramentas sejam preditivas da condição *in vivo*, a avaliação de SDDS, como estratégia na absorção limitada pela solubilidade, exige a aplicação de condições não *sink* e o uso de meios biorrelevantes na dissolução (BEVERNAGE et al., 2013).

Alguns estudos permitem correlacionar a variação dos perfis de supersaturação *in vitro* com a absorção intestinal *in vivo*. Guzmán e colaboradores (2007) relatou a utilização de um sal cristalino de celecoxib combinado a inibidores da precipitação observando melhoria significativa na absorção intestinal em cães. Neste estudo, tanto a AUC e a C_{max} dos perfis de concentração plasmática obtidos de nove formulações de celecoxib obtiveram correlação com os parâmetros correspondentes nos perfis de dissolução *in vitro*. Esses dados sugerem que a criação rápida de alta concentração intraluminal rege a absorção do fármaco celecoxib ao mesmo tempo que a zona metaestável de supersaturação é mantida por inibidores de precipitação por um determinado tempo.

Outro trabalho, no qual a incorporação do fármaco itraconazol em material mesoporoso SBA-15 foi avaliada em condições *sink* e não *sink*, demonstrou que a avaliação na condição *sink* resultou em uma liberação rápida do itraconazol no meio de dissolução. No entanto, quando a formulação foi avaliada em condições não *sink* (fluido simulado gástrico ou FaSSIF), observou-se precipitação. Fato este que motivou a inclusão do polímero HPMC para estabilizar a formulação na condição de supersaturação, resultando num desempenho aprimorado *in vitro* da formulação. Quando essas dispersões em material mesoporoso foram avaliadas *in vivo*, em ratos, a presença de HPMC também resultou em um melhor desempenho, apresentando ótima correlação com as condições não *sink* ($r^2 = 0,85$). A importância da presença do HPMC não teria sido observada caso o estudo tivesse utilizado apenas condições *sink* (MELLAERTS et al., 2007).

A dissolução em condições *sink* já exerce papel importante na caracterização da variabilidade de produtos farmacêuticos na fase de pré-formulação. No entanto, ressalta-se também a importância e a necessidade da avaliação da dissolução em condições não *sink* no desenvolvimento de DS no intuito de prever o seu potencial de precipitação. A dissolução em condição não *sink* é frequentemente relatada como tendo maior correlação *in vivo/in vitro* na avaliação de sistemas que causam supersaturação na liberação de fármacos (BEVERNAGE et al., 2013; SUN, WEN, TAYLOR, 2016) .

6.4 CONCLUSÃO

Polímeros e surfactantes podem influenciar de diferentes formas na dissolução da CTD. A presença do SOL e LSS influenciaram positivamente tanto na dissolução do fármaco como na capacidade de

manter a condição de supersaturação, atuando como inibidores de precipitação por um tempo prolongado.

De acordo com os resultados obtidos percebe-se que o polímero ALG parece não influenciar positivamente na inibição de precipitação da CTD. Pelo contrário, a DSA F3, composta unicamente do fármaco e ALG (25 %), não proporcionou a condição de supersaturação no tempo avaliado, diferente do fármaco amorfo isolado. A CTD amorfa produzida foi capaz de proporcionar altos níveis de supersaturação, no entanto a concepção de otimização da dissolução e manutenção da supersaturação foi atingida através de uma apropriada seleção e combinação de aditivos inibidores de precipitação, como o SOL e o LSS.

Os resultados desse trabalho ressaltaram a importância do teste de dissolução (*sink* versus não *sink*) no desenvolvimento e caracterização de sistemas capazes de produzir condição de supersaturação, sendo que sua execução e interpretação são distintos das formas farmacêuticas convencionais. O comportamento de DSA na dissolução *in vitro* deverá ser avaliada usando condições não *sink*, a qual permite avaliar o comportamento de precipitação do fármaco subsequente à sua liberação. Dispersões com liberação moderada ou capazes de manter altos níveis de supersaturação, como a DSA F1 e a DSS F16, são potencialmente interessantes no sentido que poderão desempenhar um melhor desempenho *in vivo*. A supersaturação intraluminal mantida durante um longo período de tempo pode gerar menores índices de precipitação e consequentemente promover uma maior absorção do fármaco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As metodologias de cálculos de parâmetro de solubilidade e o estudo da influência de carreadores poliméricos e surfactantes sobre a solubilidade aparente da CTD foram eficazes na escolha dos agentes carreadores. Estes excipientes foram capazes de formar DS promissoras com esse fármaco pela técnica de *spray drying*.

O delineamento experimental, permitiu uma avaliação da influência da presença ou ausência dos carreadores na DS, da proporção fármaco-excipiente, bem como as interações geradas por estes fatores. Modelos matemáticos significativos foram obtidos para a avaliação da influência destes fatores na % de dissolução do fármaco (condição *sink*) e ângulo de contato/molhabilidade.

O polímero ALG foi capaz de proporcionar um dos níveis mais altos de dissolução do fármaco (*sink*) em DS binárias com apenas 25 % de ALG na formulação. Mostrou-se também eficaz frente a diferentes condições de umidade e temperatura na manutenção dessa dissolução e na prevenção da recristalização do fármaco. No entanto, quando avaliado em condições não *sink*, este parece não atuar como inibidor de precipitação, fazendo com a F3 não exiba nível de supersaturação do fármaco tanto em água quanto em meio biorrelevante.

Por outro lado, foi desenvolvida a DSA F1, contendo a combinação dos 3 excipientes, a qual apresentou alta % de dissolução do fármaco (*sink conditions*), mantendo essa % de dissolução frente a algumas condições de umidade e temperatura por 90 dias. A combinação dos três excipientes atuou como inibindo a recristalização durante o estudo de estabilidade e também inibindo a precipitação durante a dissolução em condições não *sink*. A supersaturação produzida pela DSA F1 manteve-se por mais de 6 horas em meio biorrelevante. Esse fato pode culminar em uma supersaturação intraluminal da CTD, quando *in vivo*, e melhorar a absorção do fármaco.

Da mesma forma, a DSS F16, contendo a combinação de SOL-LSS, proporcionou uma dissolução do fármaco acima de 90 % em condições *sink* e manteve esta por até 90 dias frente a algumas condições de umidade e temperatura. A combinação SOL-LSS atuou também como inibidor de precipitação nos ensaios de dissolução em condições não *sink*. A DSS F16 também foi capaz de manter altos níveis de supersaturação por até 6 horas em meio biorrelevante.

Por fim, este trabalho proporcionou de desenvolvimento de DS de CTD inéditas que possuem características promissoras quanto a melhoria das propriedades biofarmacêuticas deste fármaco.

REFERÊNCIAS

- ABDOU, H. M. **Dissolution, bioavailability and bioequivalence**. Easton: Mack Publishing Company, 1989. 554 p.
- ACHARYA, S.; PATRA, S.; PANI, N. R. Optimization of HPMC and carbopol concentrations in non-effervescent floating tablet through factorial design. **Carbohydrate polymers**, v. 102, p. 360-368, 2014.
- ALONZO, D. E.; ZHANG, G. G. Z.; ZHOU, D.; GAO, Y.; TAYLOR, L. S. Understanding behavior of amorphous pharmaceutical systems during dissolution. **Pharmaceutical Research**, v. 27, p. 608–618, 2010.
- AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v.12, p. 413-420, 1995.
- ANTONY, J. **Design of Experiments for Engineers and Scientists**. 2^a ed. Edinburgh : Elsevier, 2014, 220 p.
- ARMSTRONG, N. A. **Pharmaceutical Experimental Design and Interpretation**. 2^a ed. Londres: Taylor & Francis, 2006. 237 p.
- ATWOOD, D; FLORENCE, A. T. **Physical Pharmacy**. London: Pharmaceutical Press, 2008. 193 p.
- BAGHEL, S.; CATHCART, H.; O'REILLY, N. J. Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 9, p. 2527-2544 2016.
- BELLANTONE, R. A. Fundamentals of amorphous systems: Thermodynamic Aspects. In: SHAH, N; SANDHU, H; CHOI, D. S.; CHOKSHI, H.; MALICK, A. W. **Amorphous Solid Dispersions: Theory and Practice**. Nova Iorque: Springer, p. 3-34, 2014.

- BEVERNAGE, J.; BROUWERS, J.; BREWSTER, M. E.; AUGUSTIJNS, P. Evaluation of gastrointestinal drug supersaturation and precipitation: Strategies and issues. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 25–35, 2013.
- BLEY, H.; FUSSNEGGER, B.; BODMEIER, R. Characterization and stability of solid dispersions based on PEG/polymer blends. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 390, n. 2, p. 165-173, maio 2010.
- BLOCH, D. W.; ELEGAKY, M. A.; SPEISER, P. P. Solid dispersion of chlorthalidone in urea phase diagram and dissolution characteristics. **Pharmaceutica acta Helvetiae**, v. 57, n. 8, p. 231, 1982.
- BONFILIO, R.; LEAL, J. A., SANTOS, O.M.M.; PEREIRA, G.R.; DORIGUETTO, A.C.; DE ARAÚJO, M. Analysis of chlorthalidone polymorphs in raw materials and tablets and the effect of forms I and II on the dissolution properties of drug products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 88, p. 562-570, jan. 2014.
- BORBA, P. A. A., PINOTTI, M., CAMPOS, C. E. M., PEZZINI, B. R., STULZER, H. K. Sodium alginate as a potential carrier in solid dispersion formulations to enhance dissolution rate and apparent water solubility of BCS II drugs. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, n.10, fev. 2016.
- BROADHEAD, J.; EDMOND ROUAN, S. K.; RHODES, C. T. The spray drying of pharmaceuticals. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 18, n. 11-12, p. 1169-1206, 1992.
- BROUWERS, J.; BREWSTER, M. E.; AUGUSTIJNS, P. Supersaturating drug delivery systems: the answer to solubility-limited or oral bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n.10, p. 4215–4227, 2009.
- BUENO, M. M.; RECH, N. Insumos farmacêuticos - Aspectos técnicos, científicos e regulatórios. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. **Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009, p. 12–20.

BUNJES, H., KOCH, M.H.J., WESTESEN, K. Effect of particle size on colloidal solid triglycerides. **Langmuir**, v.16, n. 12, p. 5234–5241, 2000.

CARLERT, S.; PÅLSSON, A.; HANISCH, G.; VON CORSWANT, C.; NILSSON, C.; LINDFORS, L.; ABRAHAMSSON, B. Predicting intestinal precipitation—a case example for a basic BCS class II drug. **Pharmaceutical research**, v. 27, n. 10, p. 2119-2130, 2010.

CHEN, J.; ORMES, J. D.; HIGGINS, J. D.; TAYLOR, L. S. Impact of surfactants on the crystallization of aqueous suspensions of celecoxib amorphous solid dispersion spray dried particles. **Molecular pharmaceuticals**, v. 12, n. 2, p. 533-541, 2015.

CHIOU, W.L.; RIEGELMAN, S. Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersions of griseofulvin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58 n. 12., p. 1505–1510, 1969.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.13, p. 123-133, 2001.

CURATOLO, W.; NIGHTINGALE, J. A.; HERBIG, S. M. Utility of hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate (HPMCAS) for initiation and maintenance of drug supersaturation in the GI milieu. **Pharmaceutical research**, v. 26, n. 6, p. 1419-1431, 2009.

CRISP, J. L.; DANN, S. E.; BLATCHFORD, C. G. Antisolvent crystallization of pharmaceutical excipients from aqueous solutions and the use of preferred orientation in phase identification by powder X-ray diffraction. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 5, p. 568-577, 2011.

DAHLBERG, C.; MILLQVIST-FUREBY, A.; SCHULEIT, M. Surface composition and contact angle relationships for differently prepared solid dispersions. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals**, v. 70, n. 2, p. 478-485, 2008.

DESCAMPS, M. Amorphous Pharmaceutical Solids. **Advanced drug Delivery Reviews**, v. 100, maio 2016

DOBRY, D. E.; SETTELL, D. M.; BAUMANN, J. M.; RAY, R. J.; GRAHAM, L. J.; BEYERINCK, R. A. A Model-Based Methodology for Spray-Drying Process Development. **Journal of pharmaceutical innovation**, v. 4, n. 3, p. 133-142, 2009.

DRESSMAN, J. B.; THELEN, K.; JANTRATID, E. Towards quantitative prediction of oral drug absorption. **Clinical pharmacokinetics**, v. 47, n. 10, p. 655-667, 2008.

EFENTAKIS, M.; KOUTLIS, A. Release of furosemide from multiple-unit and single-unit preparations containing different viscosity grades of sodium alginate. **Pharmaceutical development and technology**, v. 6, n. 1, p. 91-98, 2001.

ELSAIED, A.; AL-REMAWI, M.; QINNA, N.; FAROUK, A.; AL-SOU'OD, K. A.; BADWAN, A. A. Chitosan–Sodium Lauryl Sulfate Nanoparticles as a Carrier System for the In Vivo Delivery of Oral Insulin. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 3, p. 958-964, 2011.

ETZLER, F. M.; DRELICH, J. Atomic force microscopy for characterization of surfaces, particles, and their interactions. **Developments in Surface Contamination and Cleaning**, eds. Kohli, Mittal, New York: Elsevier, p. 307-332, 2012. ETZLER et al., 2012

FAN, L.; YUMIN DU, BAOZHONG ZHANG, JIANHONG YANG, JINPING ZHOU, JOHN F. KENNEDY, Preparation and properties of alginate/carboxymethyl chitosan blend fibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, n. 4, p. 447-452, set. 2006.

FAHR, A.; LIU, X. Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs. **Expert opinion on drug delivery**, v. 4, n. 4, p. 403-416, 2007. FEDORS, R. F. A method for estimating both the solubility parameters and molar volumes of liquids. **Polymer Engineering & Science**, v. 14, n. 2, p. 147–154, fev.1974

GASPAR, F.; VICENTE, J.; NEVES, F.; AUTHELIN, J. R. Spray Drying: Scale-Up and Manufacturing. In: SHAH, N; SANDHU, H; CHOI, D. S.; CHOKSHI, H.; MALICK, A. W. **Amorphous Solid Dispersions**. Springer New York, 2014. p. 261-302.

GAVEZZOTTI, A. **Molecular aggregation: structure analysis and molecular simulation of crystals and liquids**. New York: Oxford University Press, 2007.

GHEBREMESKEL, A. N.; VEMAVARAPU, C.; LODAYA, M. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: stability testing of selected solid dispersions. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 8, p. 1928-36, Ag. 2006.

GHEBREMESKEL, A. N.; VEMAVARAPU, C.; LODAYA, M. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: selection of polymer–surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability. **International journal of pharmaceutics**, v. 328, n. 2, p. 119-129, 2007.

GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Editora Mc Graw Hill, 2005.

GUO, Y.; SHALAEV, E.; SMITH, S. Physical stability of pharmaceutical formulations: solid-state characterization of amorphous dispersions. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 137-144, 2013.

GUPTA, P.; BANSAL, A. K. Spray drying for generation of a ternary amorphous system of celecoxib, PVP, and meglumine. **Pharmaceutical development and technology**, v. 10, n. 2, p. 273-281, 2005.

GUPTA, J.; NUNES, C.; VYAS, S.; JONNALAGADDA, S. Prediction of solubility parameters and miscibility of pharmaceutical compounds by molecular dynamics simulations. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 9, p. 2014-2023, 2011.

GUPTA, J.; NUNES, C.; JONNALAGADDA, S. A molecular dynamics approach for predicting the glass transition temperature and plasticization effect in amorphous pharmaceuticals. **Molecular pharmaceutics**, v. 10, n. 11, p. 4136-4145, 2013.

GUZMÁN, H. R.; TAWA, M.; ZHANG, Z.,
RATANABANANGKOON, P.; SHAW, P.; MUSTONEN, P.;
GARDNER, C.; CHEN, H., MOREAU J, ALMARSSON, O,
REMENAR J. A “spring and parachute” approach to designing solid

celecoxib formulations having enhanced oral absorption. **AAPS J**, v. 6, n. Suppl 1, p. T2189, 2004.

GUZMÁN, H. R.; TAWA, M.; ZHANG, Z.; RATANABANANGKON, P.; SHAW, P.; GARDNER, C. R.; CHEN, H.; MOREAU, J. P.; ALMARSSON, Ö.; REMENAR, J.; Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 10, p. 2686–2702, 2007.

GREENHALGH, D. J.; WILLIAMS, A. C.; TIMMINS, P.; YORK, P. Solubility parameters as predictors of miscibility in solid dispersions **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 88, n. 11, p. 1182-1190, 1999.

HA, E. S.; BAEK, I. H.; CHO, W.; HWANG, S. J.; KIM, M. S. Preparation and evaluation of solid dispersion of atorvastatin calcium with Soluplus® by spray drying technique. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 62, n. 6, p. 545-551, 2014.

HANCOCK, B. C.; YORK, P.; ROWE, R. C. The use of solubility parameters in pharmaceutical dosage form design. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 148, n. 1, p. 1-21, 1997.

HIBBERT, D. B. Experimental design in chromatography: a tutorial review. **Journal of Chromatography B**, v. 910, p. 2-13, 2012.

HIGUCHI, T. Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 11, p. 85-97, 1960.

HILDEBRAND, J. H.; SCOTT, R. L. Solutions of nonelectrolytes. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 75-92, 1950.

HOLM, R; MÜLLERTZ, A; MU, H. Bile salts and their importance for drug absorption. **International journal of pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 44-55, 2013.

HU, Q.; WYTTEBACH, N.; SHIRAKI, K.; CHOI, D.S. Miniaturized Screening Tools for Polymer and Process Evaluation. In: SHAH, N; SANDHU, H; CHOI, D. S.; CHOKSHI, H.; MALICK, A. W.

Amorphous Solid Dispersions: Theory and Practice. Nova Iorque: Springer, p. 3-34, 2014.

HUANG, L. F; TONG, W.Q. T. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. **Advanced drug delivery reviews**, v. 56, n. 3, p. 321-334, 2004.

JAMES, P. A.; OPARIL, S.; CARTER, B. L.; CUSHMAN, W. C.; DENNISON-HIMMELFARB, C.; HANDLER, J.; SMITH, S. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **Journal of the American Medical Association**, v. 311, n. 5, p. 507-20, fev. 2014.

JANSSENS, S.; VAN DEN MOOTER, G. Review: Physical chemistry of solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, p. 1571-1586, 2009.

JANTRATID, E.; DRESSMAN, J. Biorelevant dissolution media simulating the proximal human gastrointestinal tract: an update. **Dissolution Technology**, v. 16, n. 3, p. 21-5, 2009.

JONES, B.; GOOS, P. I-optimal versus D-optimal split-plot response surface designs. **Journal of Quality Technology**, v. 44, p. 85-101, 2012.

KARAVAS, E.; KTISTIS, G.; XENAKIS, A.; GEORGARAKIS, E. Effect of hydrogen bonding interactions on the release mechanism of felodipine from nanodispersions with polyvinylpyrrolidone. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 63, n. 2, p. 103-114, 2006.

KAUR, J.; AGGARWAL, G.; SINGH, G.; RANA, A. C. Improvement of drug solubility using solid dispersion. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 228-232, jan. 2012

KÉKICHEFF, P., GRABIELLE-MADELMONT, C., OLLIVON, M. Phase diagram of sodium dodecyl sulfate-water system, **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 131, n. 1, p. 112-132, 1989.

KERNS, E. H.; DI, L. **Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization**. 1 ed. Elsevier, 2008

KHAN, K. A.; RHODES, C. T. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, p. 48-49, 1975.

KHOU, X.; ZHOU, L. Stability of Amorphous Solid Dispersion. In: SHAH, N; SANDHU, H; CHOI, D. S.; CHOKSHI, H.; MALICK, A. W. **Amorphous Solid Dispersions: Theory and Practice**. Nova Iorque: Springer, p. 515-540, 2014.

KOUNTOURELLIS; J. E., MARKOPOULOU, C. K., UNDERWOOD, F. A.; CHAPMAN, B. X-ray characterization of 12 diuretics. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 37, n. 2, p. 187-191, abr. 1992.

KUMAR, A.; SAXENA, A.; SINGH, D.; PANDYA, D. **Novel polymorph of 3-hydroxy-3-(3'-sulfamyl-4'-chlorophenyl) phthalimidine**. WO2006109318 A. Google Patents, outubro 2006.

LAITINEN, R.; PETRA A. PRIEMEL, SACHIN SURWASE, KIRSTEN GRAESER, CLARE J. STRACHAN, HOLGER GROHGANZ AND THOMAS RADES. Theoretical Considerations in Developing Amorphous Solid Dispersions. In: SHAH, N; SANDHU, H; CHOI, D. S.; CHOKSHI, H.; MALICK, A. W. **Amorphous Solid Dispersions Theory and Practice**, pp 35-90, 2014.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 47-60, 2000.

LIN, S. Y.; LIN, H. L.; CHI, Y. T.; HUANG, Y. T.; KAO, C. Y.; HSIEH, W. H. Thermoanalytical and Fourier transform infrared spectral curve-fitting techniques used to investigate the amorphous indomethacin formation and its physical stability in Indomethacin-Soluplus® solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 496, n. 2, p. 457-465, dez. 2015.

LIU, H.; TAYLOR, L. S.; EDGAR, K. J. The role of polymers in oral bioavailability enhancement; a review. **Polymer**, v. 77, p. 399-415, 2015.

LU, Y.; TANG, N.; LIAN, R.; QI, J.; WU, W. Understanding the relationship between wettability and dissolution of solid dispersion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 465, n. 1-2, p. 25-31, abr. 2014.

LUST, A.; STRACHAN, C. J.; VESKI, P.; AALTONEN, J.; HEINÄMÄKI, J.; YLIRUUSI, J.; KOGERMANN, K. Amorphous solid dispersions of piroxicam and Soluplus®: Qualitative and quantitative analysis of piroxicam recrystallization during storage. **International Journal of pharmaceutics**, v. 486, n. 1, p. 306-314, 2015.

MAAS, S. G.; SCHALDACH, G.; LITTRINGER, E. M.; MESCHER, A.; GRIESSER, U. J.; BRAUN, D. E.; URBANETZ, N. A. The impact of spray drying outlet temperature on the particle morphology of mannitol. **Powder Technology**, v. 213, n. 1, p. 27-35, 2011.

MADSEN, C. G.; SKOV, A.; BALDURSDOTTIR, S.; RADES, T.; JORGENSEN, L.; MEDLICOTT, N. J. Simple measurements for prediction of drug release from polymer matrices—Solubility parameters and intrinsic viscosity. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 92, p. 1-7, 2015.

MAH, P.T.; PELTONEN, L.; NOVAKOVIC, D.; RADES, T.; STRACHAN, C. J.; LAAKSONEN, The effect of surfactants on the dissolution behavior of amorphous formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 103, p. 13-22, 2016.

MALAKAR, J.; NAYAK, A. K. Formulation and statistical optimization of multiple-unit ibuprofen-loaded buoyant system using 2 3-factorial design. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, n. 11, p. 1834-1846, 2012.

MANCIA, G. et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **Journal of Hypertension**, v. 31, n. 7, p. 1281-1357, jul.2013.

MANDAL, S.; BASU, S. K; SA, B. Sustained release of a water-soluble drug from alginate matrix tablets prepared by wet granulation method. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 4, p. 1348-1356, 2009.

MARTÍNEZ, L.M.; VIDEA, M.; LÓPEZ-SILVA, G.A.; DE LOS REYES, C.A.; CRUZ-ANGELES, J.; GONZÁLEZ, N. Stabilization of amorphous paracetamol based systems using traditional and novel strategies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 294-305, 2014.

MARTINS, F. T., BOCELLI, M. D., BONFILIO, R., DE ARAUJO, M. B., LIMA, P. V. D., NEVES, P. P., DORIGUETTO, A. C.. Conformational polymorphism in racemic crystals of the diuretic drug chlorthalidone. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 7, p. 3235-3244, 2009.

MELLAERTS, R.; AERTS, C. A.; VAN HUMBEECK, J.; AUGUSTIJNS, P.; VAN DEN MOOTER, G.; MARTENS, J. A. Randy et al. Enhanced release of itraconazole from ordered mesoporous SBA-15 silica materials. **Chemical Communications**, n. 13, p. 1375-1377, 2007.

MITCHELL, S. A.; REYNOLDS, T. D.; DASBACH, T. P. A compaction process to enhance dissolution of poorly water-soluble drugs using hydroxypropyl methylcellulose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 250, n. 1, p. 3-11, 2003.

MOFFAT, A.C; OSSELTON, M.D.; WIDDOP, B. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons**. 3 ed. London: Pharmaceutical Press, 2004.

MOORE, J.W., FLANNER, H.H. Mathematical comparison of dissolution profiles. **Pharmaceutical Technology**, v. 20, n. 6, p. 64-74, 1996.

MURDANDE, S. B.; PIKAL, M. J.; SHANKER, R. M.; BOGNER, R. H. Solubility advantage of amorphous pharmaceuticals: II. Application of quantitative thermodynamic relationships for prediction of solubility enhancement in structurally diverse insoluble pharmaceuticals. **Pharmaceutical research**, v. 27, n. 12, p. 2704-2714, 2010.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C.; ANDERSON-COOK, C. M. **Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments**. 3^a ed. 680 p. Wiley & Sons Inc., 2009.

NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. **Fundamentos de físico-Química: Uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas**. Artmed, set. 2008. 296 p.

NEWA, M.; BHANDARI, K. H.; LI, D. X.; KWON, T. H.; KIM, J. A.; YOO, B. K.; CHOI, H. G. Preparation, characterization and in vivo evaluation of ibuprofen binary solid dispersions with poloxamer 188. **International journal of pharmaceutics**, v. 343, n. 1, p. 228-237, 2007.

NEWMAN, A.; KNIPP, G.; ZOGRAFI, G. Assessing the performance of amorphous solid dispersions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 4, p. 1355-77, abril 2012

NEWMAN, A.; NAGAPUDI, K.; WENSLOW, R. Amorphous solid dispersions: a robust platform to address bioavailability challenges. **Therapeutic delivery**, v. 6, n. 2, p. 247-261, 2015.

NOWAK, E.; COMBES, G.; STITT, E. H.; PACEK, A. W. A comparison of contact angle measurement techniques applied to highly porous catalyst supports. **Powder technology**, v. 233, p. 52-64, 2013.

OBEIDAT, W. M.; SALLAM, A. A. Evaluation of tadalafil nanosuspensions and their PEG solid dispersion matrices for enhancing its dissolution properties. **AAPS PharmSciTech**, v. 15, n. 2, p. 364-374, 2014.

OVERHOFF, K. A.; MCCONVILLE, J. T.; YANG, W.; JOHNSTON, K. P.; PETERS, J. I.; WILLIAMS III, R. O. Effect of stabilizer on the maximum degree and extent of supersaturation and oral absorption of tacrolimus made by ultra-rapid freezing. **Pharmaceutical research**, v. 25, n. 1, p. 167-175, 2008.

OZAKI, S.; MINAMISONO, T.; YAMASHITA, T.; KATO, T.; KUSHIDA, I. Supersaturation–nucleation behavior of poorly soluble drugs and its impact on the oral absorption of drugs in

thermodynamically high-energy forms. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 1, p. 214-222, 2012.

PADDEN, B. E.; MILLER, J. M.; ROBBINS, T.; PRASAD, L.; SPENCE, J. K.; LAFOUNTAIN, J. Formulation development-amorphous solid dispersions as enabling formulations for discovery and early development. **American Pharmaceutical Review**, v. 14, n. 1, p. 66, 2011.

PAPAGEORGIOU, S. K.; KOUVELOU, E. P.; FAVVAS, E. P.; SAPALIDIS, A. A.; ROMANOS, G. E.; KATSAROS, F. K. Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 4, p. 469-473, 2010.

PANDIT, N.; HORHOTA, S. T. **Novel chlorthalidone process and product**. U.S. Patent n. 4,933,360, 12 jun. 1990.

PENTEWAR, RS, SOMWANSHI, S. V.; SUGAVE, B. K. Spray Drying: A Review on Single Step Rapid Drying Technique. **RS Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 5 n. 2, p. 1502-1514, 2014.

PICCINNI, P.; TIAN, Y.; MCNAUGHTON, A.; FRASER, J.; BROWN, S.; JONES, D. S.; ANDREWS, G. P. Solubility parameter-based screening methods for early-stage formulation development of itraconazole amorphous solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68 n.5, p. 705-720, 2016.

PROSSER, A. J.; FRANCES, E. I. Infrared reflection absorption spectroscopy (IRRAS) of aqueous nonsurfactant salts, ionic surfactants, and mixed ionic surfactants. **Langmuir**, v. 18, n. 24, p. 9234-9242, 2002.

RAO, R. N. G.; KUMAR, K. R. Design of fast dissolving tablets of Chlorthalidone using novel co-processed superdisintegrants. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 4, p. 671-9, 2010.

RAO, R. N. G.; RAVI, K.; UPENDRA, K. Comparative study on effect of different techniques used in development of Chlorthalidone fast dissolving tablets. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and research**, v. 1, n. 2, p. 172-186, 2010.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; MURPHY, D. Significance of controlling crystallization mechanisms and kinetics in pharmaceutical systems. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 88, n. 7, p. 651-660, 1999.

ROUSH, G. C.; BUDDHARAJU, V.; ERNST, M. E. Is chlorthalidone better than hydrochlorothiazide in reducing cardiovascular events in hypertensives? **Current Opinion in Cardiology**, v. 28, n. 4, p. 426-32, Jul. 2013.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J. QUINN, M. E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

RUMONDOR, A. C.; IVANISEVIC, I.; BATES, S.; ALONZO, D. E.; TAYLOR, L. S. Evaluation of drug-polymer miscibility in amorphous solid dispersion systems. **Pharmaceutical research**, v. 26, n. 11, p. 2523-2534, 2009.

SAMBO, F.; BORROTTI, M.; MYLONA, K. A coordinate-exchange two-phase local search algorithm for the D- and I-optimal designs of split-plot experiments. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 71, p. 1193-1207, 2014.

SCHEUING, D. R., WEERS, J. G. A Fourier transform infrared spectroscopic study of dodecyltrimethylammonium chloride/sodium dodecyl sulfate surfactant mixtures. **Langmuir**, v. 6, n. 3, p 665–671, 1990.

SERAJUDDIN, A.T. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, p. 1058-66, 1999.

SILVA, M.B. **Design Of Experiments – Applications**. Croatia: Intech, 2013.

SHAMMA, R. N.; BASHA, M. Soluplus®: A novel polymeric solubilizer for optimization of carvedilol solid dispersions: formulation design and effect of method of preparation. **Powder Technology**, v. 237, p. 406-414, 2013.

SHARGEL, L.; WU-PONG, S.; YU, A. B.C. **Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics**. McGraw-Hill, 2005.

SINGER, J. M.; O'HARE, M. J. REHM, C. R.; ZAREMBO, J.E. Chlorthalidone. In: FLOREY, K. **Analytical Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, v. 14, p 2-34, 1985.

SINGH, A.; VAN DEN MOOTER, G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.100, n. 1, p. 27-50, maio 2016.

SMITH, L. A.; HAMMOND, R. B.; ROBERTS, K. J.; MACHIN, D.; MCLEOD, G. Determination of the crystal structure of anhydrous sodium dodecyl sulphate using a combination of synchrotron radiation powder diffraction and molecular modelling techniques. **Journal of Molecular Structure**, v. 554, n. 2, p. 173-182, 2000.

SPERLING, L. H. **Polymeric multicomponent materials: an introduction**. Wiley-Interscience, 1997.

SRIDHAR, I.; DOSHI, A.; JOSHI, B.; WANKHEDE, V.; DOSHI, J. Solid dispersions: an approach to enhance solubility of poorly water soluble drug. **Journal of Scientific and Innovative Research**, v. 2, n. 3, p. 685–694, 2013

SUN, D. D.; WEN, H.; TAYLOR, L. S. Non-Sink Dissolution Conditions for Predicting Product Quality and In Vivo Performance of Supersaturating Drug Delivery Systems. **Journal of pharmaceutical sciences**, 2016.

SUN, Y., ZHU, L., WU, T., CAI, T., GUNN, E. M., YU, L. Stability of amorphous pharmaceutical solids: crystal growth mechanisms and effect of polymer additives. **The AAPS journal**, v. 14, n. 3, p. 380-388, 2012.

SURIKUTCHI, B. T., PATIL, S. P., SHETE, G., PATEL, S., BANSAL, A. K. Drug-excipient behavior in polymeric amorphous solid dispersions. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v. 4, n. 3, p. 70-94, 2013.

TAJIRI, T., MORITA, S., SAKAMOTO, R., MIMURA, H., OZAKI, Y., REPPAS, C., KITAMURA, S. Developing dissolution testing methodologies for extended-release oral dosage forms with supersaturating properties. Case example: Solid dispersion matrix of indomethacin. **International journal of pharmaceutics**, v. 490, n. 1, p. 368-374, 2015

TERIFE, G., WANG, P., FARIDI, N., GOGOS, C. G. Hot melt mixing and foaming of soluplus® and indomethacin. **Polymer Engineering & Science**, v. 52, n. 8, p. 1629-1639, 2012.

THE ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic - The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). **Journal of the American Medical Association**, v. 288, n. 23, p. 2981-2997, dec. 2002.

TIAN, Y.; JONES, D.; ANDREWS, G. P. An investigation into the role of polymeric carriers on crystal growth within amorphous solid dispersion systems. **Molecular pharmaceutics**, v. 12, n. 4, p. 1180-1192, 2015.

TRAN, T. H., POUDEL, B. K., MARASINI, N., CHI, S. C., CHOI, H. G., YONG, C. S., KIM, J. O. Preparation and evaluation of raloxifene-loaded solid dispersion nanoparticle by spray-drying technique without an organic solvent. **International journal of pharmaceutics**, v. 443, n. 1, p. 50-57, 2013.

TSUME, Y.; MUDIE, D. M.; LANGGUTH, P.; AMIDON, G. E.; AMIDON, G. L. The Biopharmaceutics Classification System: subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, p. 152-163, 2014.

UEDA, K., HIGASHI, K., YAMAMOTO, K., MORIBE, K. Equilibrium State at Supersaturated Drug Concentration Achieved by Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate: Molecular Characterization Using ¹H NMR Technique. **Molecular pharmaceutics**, v. 12, n. 4, p. 1096-1104, 2015.

USP 30 NF 25. **THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA**. 30 ed. United States Pharmacopeial Convention: Rockville, 2008

VAN DEN MOOTER, G. The use of amorphous solid dispersions: A formulation strategy to overcome poor solubility and dissolution rate. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 9, p. 79-85, 2011.

VASCONCELOS, T., MARQUES, S., DAS NEVES, J., SARMENTO, B. Amorphous solid dispersions: Rational selection of a manufacturing process. **Advanced drug delivery reviews**, v. 100, p. 85-101, 2016.

VASCONCELOS, T.; SARMENTO, B.; COSTA, P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discovery Today**, v. 12, p. 1068-1075, 2007.
VEHRING, 2008

VO, C.L.; PARK, C.; LEE, B.J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, p. 799-813, 2013.

WARREN, D. B.; BENAMEUR, H.; PORTER, C. J.H.; POUTON, C. W. Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: A mechanistic basis for utility. **Journal of Drug Targeting**, v. 18, n.10, p. 704–731, 2010.

WEGIEL, L. A., MAUER, L. J., EDGAR, K. J., TAYLOR, L. S. Mid-infrared spectroscopy as a polymer selection tool for formulating amorphous solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 2, p. 244-255, 2014.

WEXLER, A.; HASEGAWA, S. Relative humidity-temperature relationships of some saturated salt solutions in the temperature range 0 to 50 C. **Journal of Research of the National Bureau of Standards**, v. 53, n. 1, p. 19-26, 1954.

WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, S. A.; SHANKER, R. M.; CHARMAN, W. N.; POUTON, C. W.; PORTER, C. J. H. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, p. 315–499, 2013.

WU, C. Y.; BENET, L. Z. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/ absorption/ elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system.

Pharmaceutical Research, v. 22, n. 1, p. 11-23, jan. 2005.

XIA, D., YU, H., TAO, J., ZENG, J., ZHU, Q., ZHU, C., GAN, Y. Supersaturated polymeric micelles for oral cyclosporine A delivery: The role of Soluplus–sodium dodecyl sulfate complex. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 141, p. 301-310, 2016.

YONEMOCHI, E.; SHINICHI KITAHARA, SHUEI MAEDA, SHIGEO YAMAMURA, TOSHIO OGUCHI, KEIJI YAMAMOTO, Physicochemical properties of amorphous clarithromycin obtained by grinding and spray drying. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 4, p. 331-3381, mar. 1999.

YOSHIOKA, M.; HANCOCK, B. C.; ZOGRAFI, G. Crystallization of indomethacin from the amorphous state below and above its glass transition temperature. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 83, n. 12, p. 1700-1705, 1994.

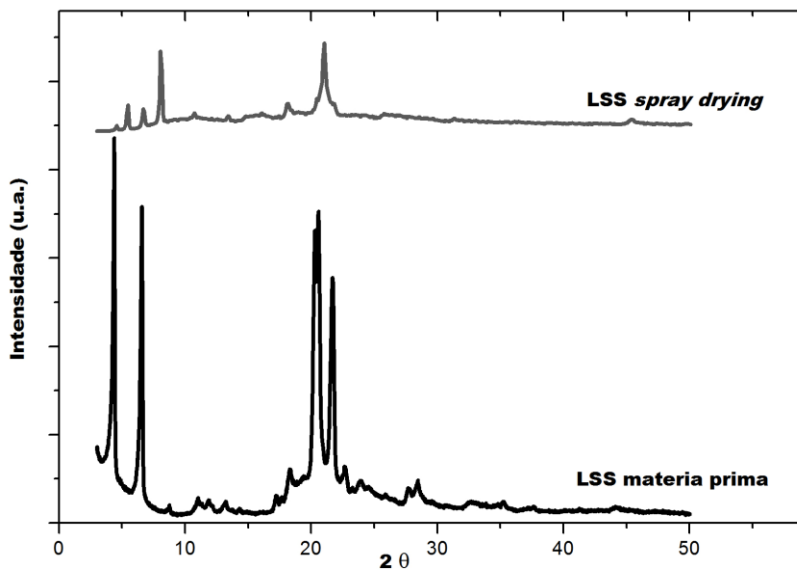
YOUSSEF, R. M., MAHER, H. M., EL-KIMARY, E. I., HASSAN, E. M., BARARY, M. H. Validated stability-indicating methods for the simultaneous determination of amiloride hydrochloride, atenolol, and chlorthalidone using HPTLC and HPLC with photodiode array detector. **Journal of AOAC International**, v. 96, n. 2, p. 313-323, 2013.

YU, M., OCANDO, J. E., TROMBETTA, L., CHATTERJEE, P. Molecular Interaction Studies of Amorphous Solid Dispersions of the Antimelanoma Agent Betulinic Acid. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, n. 2, p. 384-397, 2015.

ZHANG, K., YU, H., LUO, Q., YANG, S., LIN, X., ZHANG, Y., TANG, X. Increased dissolution and oral absorption of itraconazole/Soluplus extrudate compared with itraconazole nanosuspension. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3, p. 1285-1292, 2013.

APÊNDICE A

Difração de raios X de pó do Lauril Sulfato de Sódio matéria-prima e amostra atomizada por *spray drying*.



Fonte: o autor